

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
an der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus-Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. med. Max Frimmer

**Schutzwirkung einiger Pharmaka bei der Phalloidin-
vergiftung der isoliert perfundierten Rattenleber**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus-Liebig-Universität
zu Gießen

Eingereicht von
GEORG WEIL
Tierarzt aus Offenbach am Main

Gießen 1969

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
an der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus-Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. med. Max Frimmer

**Schutzwirkung einiger Pharmaka bei der Phalloidin-
vergiftung der isoliert perfundierten Rattenleber**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus-Liebig-Universität
zu Gießen

Eingereicht von
GEORG WEIL
Tierarzt aus Offenbach am Main

Gießen 1969



Mit Genehmigung des Dekans
der Veterinärmedizinischen Fakultät in Gießen

Dekan: Professor Dr. H. T i l l m a n n

Berichterstatte: Professor Dr. M. F r i m m e r

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juli 1969

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Einleitung	4
2. Material und Methoden	15
3. Ergebnisse	21
1. Hemmung des Kaliumverlustes der perfundierten Leber durch Pharmaka	21
1,1. Thioctsäure	21
1,2. Dithiopropanol (BAL)	27
1,3. Cystein-Hydrochlorid	29
1,4. Cysteamin-Hydrochlorid	32
1,5. Acetyl-homocystein-Thiolacton	33
1,6. Coenzym A	34
1,7. Silymarin	35
1,8. Dimethylsulfoxid (DMSO)	36
1,9. Temoebilin	38
1,10. Decholin	39
1,11. Essentielle 3o3 (EPL)	40
1,12. Insulin	41
1,13. Decortilen solubile	42
2. Beeinflussung der β -Glucuronidase-Akti- vität	43
4. Diskussion	45
5. Zusammenfassung	50
6. Literaturverzeichnis	52
7. Lebenslauf	57

1. EINLEITUNG

Alljährlich registriert die Statistik einige Hundert Pilzvergiftungen in aller Welt, davon allein in Westdeutschland 50-100 tödlich verlaufende Fälle (O. Wieland, 1965). Über 90 % dieser Fälle werden durch Pilze der Gattung *Amanita* verursacht. In Nordamerika sind es *Amanita verna*, "the destroying angel" und *Amanita tenuifolia* (Block et al., 1955), in Mitteleuropa ist es der grüne Knollenblätterpilz, *Amanita phalloides*, der den meisten Schaden anrichtet.

Vergiftungen mit diesem Pilz sind deshalb so gefährlich, weil schon sehr kleine Mengen der Inhaltsstoffe zu einer Zerstörung der Leber führen. In einem einzigen Pilz können Giftmengen enthalten sein, die 2-3 Menschen töten. Entscheidend bei der meist tödlich verlaufenden Intoxikation ist jedoch die Tatsache, daß bis zum Auftreten der ersten Symptome viele Stunden ungenutzt vergehen, in denen das Gift aus dem Intestinaltrakt resorbiert wird und seine verhängnisvolle Wirkung auf die Leber ausübt.

Das klinische Bild der Knollenblätterpilzvergiftung sieht im allgemeinen folgendermaßen aus: Nach einer Latenz von mindestens 6 bis äußerstenfalls 24 Stunden kommt es zu schweren gastroenteritischen Erscheinungen mit unstillbarem Erbrechen, heftigen Koliken,

Exsikkose, Oligurie und Temperatursenkung bei zunächst ungetrübtem Bewußtsein. Am dritten Tag tritt eine scheinbare Besserung ein. Die choleraähnlichen Symptome gehen zurück und der Blutkreislauf wird besser. Mit dem vierten Tag treten die Anzeichen einer schweren Leberschädigung in den Vordergrund: Vergrößerung und starke Schmerzhaftigkeit der Leber, Ikterus, Anstieg der Transaminasen im Blut, Absinken der Prothrombinkonzentration, Magen-Darmblutungen, Azidose und zunehmende Bewußtseinsstörung.

Bemühungen, die giftigen Inhaltsstoffe des Pilzes zu isolieren, wurden schon zu Beginn des 19. Jahrhunderts unternommen (Paulet, 1808). Mehr als 130 Jahre vergingen, ehe einer der wichtigsten Giftstoffe des grünen Knollenblätterpilzes, das Phalloidin, rein dargestellt werden konnte (F. Lynen und O. Wieland, 1938). Theodor Wieland, dem die Strukturaufklärung des Phalloidins gelang (Th. Wieland, 1967, Th. und O. Wieland, 1957), fand, daß mehrere Gifte im grünen Knollenblätterpilz vorhanden sind, die man in zwei strukturell und wirkungsmäßig verschiedene Gruppen einteilen kann:

1. die Phallotoxine, mit dem Hauptvertreter Phalloidin, dem Phallacidin, dem Phalloin und dem Phallin B .
2. die Amatoxine, mit dem α -, β - und γ -Amanitin und dem Amanin.

Während sich die Vertreter beider Gruppen chemisch sehr nahestehen (es handelt sich bei allen um Oligo-

cyclopeptide, bei denen eine Schwefelbrücke einen Cysteinrest mit dem Indolkern eines Tryptophanrestes verbindet), unterscheiden sie sich in Wirkungsweise und Angriffspunkt sehr deutlich: Das schnell wirkende Phalloidin führt zu destruktiven Veränderungen am endoplasmatischen Reticulum der Leberzelle und an den Mitochondrien (Fiume und Laschi, 1965). Das langsamer, aber 10 mal stärker wirkende Amanitin soll am Nucleolus der Leberzellkerne angreifen (Stirpe und Fiume, 1966).

Die vorliegende Arbeit befaßt sich ausschließlich mit der Phalloidinvergiftung, die trotz jahrelanger eingehender morphologischer und biochemisch-pharmakologischer Untersuchungen noch immer nicht völlig aufgeklärt ist. Während man noch bis vor zwei Jahren an eine Biotransformation des Giftes glaubte und nach einem toxischen Metaboliten suchte, haben neuere Untersuchungen ergeben, daß es keiner "Giftung" des Phalloidins im Organismus bedarf (Puchinger, 1968 Frimmer, Gries, Hegner und Schnorr, 1967).

Das ideale Studienobjekt der Phalloidinvergiftung ist die isoliert perfundierte Rattenleber. Dort führt das Gift schon wenige Minuten nach der Zugabe in die Vena portae zu einer nicht mehr rückgängig zu machen- den Schädigung der Leber, die sich im weiteren Verlauf in einer starken Schwellung und Verfärbung des Organs äußert. Selbst wenn man das Perfusionsmedium durch ein neues, nicht phalloidinhaltiges ersetzt,

ändert sich am Schicksal der Leber nichts mehr (Frimmer, Gries, Hegner und Schnorr, 1967).

Das entscheidende, weil allererste mit chemischen Methoden meßbare Ereignis bei dieser Modellvergiftung ist ein rasch einsetzender und totaler Kaliumverlust der Leber, der als Anstieg der K^+ -Konzentration im Serum des Perfusionsmediums leicht gemessen werden kann (Frimmer, Gries, Hegner und Schnorr, 1967). Dem Kaliumefflux entspricht ein zeitlich parallel verlaufender Na^+ -Einstrom (Gries, Frimmer, Hegner und Glossmann, 1968). Spätestens eine Stunde nach der Zugabe des Giftes ist die K^+ -Konzentration zwischen Leberzelle und Außenmedium ausgeglichen. In Vorversuchen war geklärt worden, daß der im Perfusionsserum gemessene Anstieg der K^+ -Konzentration nicht durch eine Freigabe von Kalium aus den Erythrozyten, sondern allein durch den Kaliumverlust der Leberzellen bedingt war. Dieser K^+ -freisetzende Effekt ist nur für das Phalloidin charakteristisch, nicht aber für das Amanitin.

Später als der K^+ -Anstieg erfolgt ein Anstieg lysosomaler Enzyme (β -Glucuronidase, Cathepsin) im Perfusionsmedium. Dies läßt vermuten, daß die Schädigung der Lysosomen eine Folge von Störungen des Ionenmilieus ist. Vermutlich strömen zusammen mit den Na^+ -Ionen auch H^+ -Ionen ein, was zu einer für die Lysosomen unverträglichen Änderung des intrazellulären Milieus führen muß.

In Bewertung dieser für die Leberzelle katastrophalen Änderung des Ionengleichgewichtes, neigt die Gießener Arbeitsgruppe zu folgender Deutung des Wirkungsmechanismus des Phalloidins: Es kommt primär zu einer Bindung des Giftes an die äußere Zellmembran, für die das Phalloidin eine relativ hohe Affinität besitzt (Frimmer, Glossmann, Hegner, Schnorr und Puchinger, 1969). Ein noch nicht näher bekannter Primärvorgang in der Plasmamembran führt zu den beschriebenen Permeabilitätsstörungen. Der Zusammenbruch des Kationengleichgewichtes hat den Verlust der strukturellen Ordnung und der biochemischen Aktivität der Leberzelle zur Folge. Das Kalium nimmt als das wichtigste intrazelluläre Kation eine Schlüsselstellung in der Beziehung Zellstruktur-Zellfunktion ein (Welt et al., 1960), denn die meisten der strukturell gebundenen Enzyme sind kationenabhängig. So dürften auch eine Reihe der bekannten Stoffwechselstörungen bei der Phalloidinvergiftung (Matschinski, 1959, Reh binder et al., 1963) eine Folge dieses Zusammenbruches der Kationengradienten sein (Frimmer, Waldvogel und Weil, 1968).

Bei der Behandlung der Knollenblätterpilzvergiftung steht die Leberschutztherapie im Vordergrund. Daneben müssen Maßnahmen zur Entfernung der noch im Magen - Darmkanal vorhandenen Pilzreste oder von Gift im Blutkreislauf ergriffen werden: Magenspülung, Aktivkohle und Laxantien, sofortige Hämodialyse oder Aus-

tauschtransfusion, Ersatz der verlorengegangenen Elektrolyte durch Infusionsbehandlung.

Es gibt einige Pharmaka, die bei der Therapie der Knollenblätterpilzvergiftung bereits Verwendung fanden. Von den schwefelhaltigen Substanzen waren dies die *Thiooctsäure* (1,2-Dithio-cyclopentan-3-valeriansäure), von der mehrfach überraschende Erfolge berichtet wurden (Herink, 1958; Kubicka, 1958 u. 1963; Obauer und Schön, 1964; Schmidt et al., 1964; Barszcs, Harmacinska, Gumovska, 1965). Im Kohlenhydratstoffwechsel fungiert Thiooctsäure als Cofaktor der oxidativen Dekarboxylierung der α -Ketosäuren und ist an der Synthese energiereicher S-Acetyl-Derivate beteiligt. Indem sie die Acetylierung von Coenzym A katalysiert, ist sie für die Bildung von Acetylphosphat sowie für andere Acetylierungen und den Ablauf des Zitronensäurecyclus unentbehrlich (Boni et al., 1955).

Dithiopropanol (B A L), ein lange bekanntes Antidot bei Schwermetallvergiftungen bindet die Metalle mit Hilfe seiner SH-Gruppen als Chelate und macht sie so biologisch inaktiv.

Das *Cystein*, besonders in der stabileren Form des Acetyl-homocystein-Thiolactons hat eine günstige Wirkung bei experimentellen Leberschäden (W. Eger, 1964 und 1968).

Vom *Cysteamin* wird eine Schutzwirkung gegen die hepatotoxischen Pyrrolizidin-Alkaloide aus *Crotalaria spectabilis*, besonders gegen das Monocrotalin

berichtet (Hayashi und Lalich, 1968).

Da die Thioctsäure, wie erwähnt ihre Hauptfunktion bei der Aktivierung des Coenzyms A ausübt, lag es nahe, auch das Coenzym A selbst auf einen Schutzeffekt an der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber zu untersuchen. Coenzym A wird seit Jahren bei der Therapie des Leberkomas zusammen mit Thioctsäure angewendet (H. Thölen et al, 1962).

Der Wirkstoff der Mariendistel, das *S i l y m a r i n*, ist schon seit dem Mittelalter als galletreibender Leberschutzstoff bekannt, obwohl seine Struktur erst im vergangenen Jahr aufgeklärt wurde (Wagner et al., 1968). Es soll toxische Leberschäden und Hepatitiden günstig beeinflussen (Eichler und Hahn, 1949; Mayer u. Menge, 1949). Im Jahre 1968 wurde von einer Schutzwirkung des Silymarins bei Phalloidinvergiftung an Mäusen berichtet (G. Vogel, 1968).

D i m e t h y l s u l f o x i d (DMSO) ist eine Substanz mit multiplen, chemisch erklärbaren Wirkungen. Als starker Dipol ist es zur Bildung von stabilen Wasserstoffbrücken in der Lage. Es kann Wassermoleküle in Strukturproteinen ersetzen und so zu Veränderungen in der Zellmembran führen. Da die Ordnung in den Strukturproteinen für die Selektivität des Transports durch die Membran verantwortlich ist, könnte DMSO die Membranpermeabilität verändern. Es beeinflusst außerdem die SH-Gruppen in Membranproteinen (Sommer und Tauber-

ger, 1964), Der Schutzeffekt beim Einfrieren und Wiederauftauen von Zellen und Geweben beruht ebenfalls auf der Fähigkeit des DMSO, Wasser auf molekularer Basis zu ersetzen, Die für die Stabilisierung von Leberlysosomen erforderliche Cortison-Konzentration konnte in Gegenwart von DMSO wesentlich herabgesetzt werden (Weissmann et al., 1967). Jacob et al. beschrieben 1964 die therapeutischen Anwendungsmöglichkeiten für DMSO. Es soll als "carrier-Substanz" Fremdstoffe durch Membranen transportieren. Über die Eigenschaft, sehr schnell biologische Membranen zu durchdringen und dabei wenig toxisch zu sein, berichten auch andere Untersucher (D. Misch und M. Misch, 1967). Hämolyse tritt erst bei 10 % DMSO ein. Im Hinblick auf die Fähigkeit dieser Substanz, die Membranpermeabilität zu verändern, erschien es lohnend, ihren Einfluß auf den K^+ -Efflux aus der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber zu untersuchen.

T e m o e b i l i n und D e c h o l i n bewirken im akuten Choledochus-Fistelversuch eine kräftige Anregung der Cholerese (Pirtkien et al., 1960). Diese Befunde wurden bestätigt durch Untersuchungen von Alfes et al. (1967) über die Ausscheidung von p-Tolylmethylcarbinol in der Galle (p-TMC ist der choleretisch wirkende Stoff in dem Präparat Temoebilin). Das p-TMC wird vermutlich an Taurocholsäuren gekoppelt, und das Kopplungsprodukt dürfte für die choleretische Wirkung

verantwortlich sein. Da die mit Phalloidin vergiftete Leber schon sehr bald nach der Giftzugabe keine Galle mehr produziert, wurde versucht, durch die erwähnten Choleretica den Gallefluß wieder anzuregen. Sollte eine Ausscheidung von Phalloidin, wenn auch nur in geringen Mengen, in der Galle stattfinden, so wäre eine Beeinflussung der Phalloidinvergiftung mit Choleretica möglich.

Das Präparat **E s s e n t i a l e 303** ist eine gereinigte Fraktion "essentieller Phospholipide" in Kombination mit B-Vitaminen und den Vitaminen C und E. Die klinische Literatur berichtet von guten Erfolgen bei der Behandlung der Fettleber mit EPL (Hartmann, 1960; Pöttgen, 1961; Siede, 1961; Schön und Jörg, 1963). Die Erhöhung der glomerulären Filtration bei der Fettleber beschreiben K. Deibert und R. Juchems 1966. Im Hinblick auf die weitverbreitete Anwendung energiereicher Strahlung erhält die Leberschutztherapie beim sogenannten Strahlensyndrom immer größere Bedeutung (A. Gregl, 1958, 1960). Das Mischpräparat verhinderte Nekrosen in der Rattenleber nach Gabe von Äthionin (H. Petzold und E. Rosam, 1963) und beschleunigte die Regeneration der experimentell durch Unterbindung des Ductus choledochus schwer geschädigten Rattenleber (W. Bross et al., 1962). Die im Frühstadium der Thioacetamidvergiftung auftretende feintropfige Leberzellverfettung konnte durch Essentiale verhindert werden (H. G. Knauff et al., 1963). Bei dem seltenen Fall einer peroralen Trichloräthylen-

vergiftung vermochten hohe Dosen EPL bei einer fast 5 Tage lang komatösen Patientin schwere Leberparenchymschäden zu verhindern (Kuntz und Neumann-Mangoldt, 1965). Schließlich liegen bereits klinische Erfahrungen in der Anwendung von Essentiale 303 bei der Phalloidinvergiftung vor (P. Eßlinger, 1966), sodaß es sinnvoll erschien, dieses Präparat auf seine Schutzwirkung gegen Phalloidin im Modellversuch zu prüfen.

Isoliert perfundierte Lebern verlieren normalerweise meist nur wenig Kalium. Der K^+ -Gehalt der perfundierten Leber ist vom Insulin abhängig. Selbst bei einem Verlust von nahezu 25 % des gesamten im Organismus vorhandenen K^+ bleibt der K^+ -Gehalt der Leber weitgehend unverändert (Kornberg und Endicott, 1946); 70-90 % des intrazellulären Kaliums sind vermutlich an Protein gebunden, während der Rest in einer labilen, glykogen-gebundenen Fraktion vorliegt, deren Größe vom jeweiligen Ernährungszustand des Tieres abhängig ist (Burton, Mondon und Ishida, 1965). Die Leberzelle verliert den Hauptanteil ihres K^+ -Gehaltes auch dann nicht, wenn die Konzentration im Außenmedium sehr niedrig ist, es sei denn, sie würde durch Anoxie oder mechanische Einflüsse geschädigt. Insulin vermag den während der Perfusion normalerweise auftretenden Kaliumverlust zu verhindern (Burton und Ishida, 1965). Dieser Effekt läßt sich durch Erhöhung der K^+ -Konzentration im Außenmedium noch verstärken. Insulin (7,3 mE.

initial, dann stündlich 44mE,) bewirkte eine Aufnahme von 30 $\mu\text{mol K}^+$ durch die Leber innerhalb von 30 Minuten bei einer Konzentration von 5,0 $\mu\text{mol K}^+/\text{ml}$ Perfusionsmedium (Mondon et al., 1968). Es war deshalb zu untersuchen, ob Insulin auch den K^+ -Verlust der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber zu beeinflussen vermag.

Die Anwendung hoher Dosen von Corticosteroiden als eine zusätzliche, unspezifische Maßnahme bei der Therapie der Knollenblätterpilzvergiftung wird in der klinischen Literatur vielfach empfohlen (Jubin und Moeschlin, 1964; Bock et al., 1964; Eglinger, 1966; Schultis und Schütterle, 1967). Es wurde deshalb die Wirkung von **D e c o r t i l e n** auf den K^+ -Verlust der Leber bei der Modellvergiftung untersucht.

2. MATERIAL und METHODEN

1. Versuchstiere: Die Perfusionen wurden an Lebern von männlichen Wistar-Ratten durchgeführt. Die Tiere hatten ein durchschnittliches Gewicht von 250-300 g. Sie wurden bis zur Präparation mit Altromin-Standarddiät gefüttert und mit Wasser getränkt.
2. Phalloidin und als Gegenmittel verwendete Substanzen:
 - 2,1. Phalloidin wurde uns freundlicherweise von Prof. Dr. Th. Wieland zur Verfügung gestellt.
 - 2,2. Thioctsäure, Thiocacid^R von CHEMIEWERK-HOMBURG.
 - 2,3. B A L (2,3-Dimercaptopropanol) von SERVA.
 - 2,4. L-Cystein (2-Amino-3-merkapto-propionsäure) von FLUKA AG., Buchs, Schweiz.
 - 2,5. Cysteamin-Hydrochlorid (2-merkapto-äthylamin-hydrochlorid) von FLUKA.
 - 2,6. Acetyl-homocystein-Thiolacton von NORDMARKWERKE, Hamburg, Werk Ütersen/Holstein.
 - 2,7. Coenzym A purum von FLUKA AG., Buchs, Schweiz.
 - 2,8. Silymarin von DR. MADAUS u. CO., Köln-Merheim.
 - 2,9. Dimethylsulfoxid (DMSO) von E. MERCK AG. in Darmstadt.
 - 2,10. Temoebilin-Konzentrat von CHEMIEWERK-HOMBURG in Frankfurt am Main.
 - 2,11. Decholin von CASELLA-RIEDEL in Frankfurt/M.

- 2,12. Essentiale 303 (EPL) von NATTERMANN u.CIE,
in Köln.
- 2,13. Insulin pur.cryst., 23-25 I.E./mg von FLUKA.
- 2,14. Decortilen soluble (16-Methylenprednisolon-
21-diäthylaminoacetat-hydrochlorid) von der
E.Merck AG., Darmstadt.

3. Methoden

- 3,1. Präparation der Rattenlebern: Die Tiere wurden mit Urethan narkotisiert (5 ml der 20 %igen Lösung/Kg. i.p.).Bei dieser Dosierung hat Urethan keinen Einfluß auf die Gallesekretion (E.Stransky,1924).Bei der Präparation kam es darauf an,unter möglichst geringem Blutverlust die in Gallengang,Pfortader und caudale Hohlvene eingeführten Plastikkatheter so zu fixieren,daß sie beim Einlegen der Leber in die Perfusionsapparatur nicht mehr herausfallen konnten.Dies geschah durch vorher angelegte Bindfadenligaturen.Die Temperatur im Labor wurde so hoch wie möglich gehalten,um eine Abkühlung der Leber während der Präparation zu vermeiden.Schließlich mußte durch schnelles Freipräparieren und Einlegen der Leber in das Perfusionssystem während der letzten Phase der Präparation die Zeit mangelhafter Versorgung mit Sauerstoff

so kurz wie möglich gehalten werden(maximal 4-5 Minuten).

3,2. Perfusionsapparatur: Die Leberperfusionen wurden in der Versuchsanordnung nach Schimassek durchgeführt. Dabei wird das Perfusionsmedium mittels Schlauchpumpe aus dem Vorratsgefäß durch ein Kunststofffilter hindurch in den Oxygenator gepumpt. Der Sauerstoff wird von unten in den Oxygenator geleitet, an dessen oberem Ende das entstehende Kohlendioxyd abgesaugt wird. Das nun oxygenisierte Perfusionsmedium gelangt durch den Pfortaderkatheter in die Leber und verläßt diese wieder über einen Auslaufkatheter durch die Hohlvene. Der Auslaufkatheter ragt in ein Trichtergefäß, welches mit einem Dreiwegehahn versehen ist. Hier können die für die Analysen notwendigen Proben entnommen und die Durchlaufgeschwindigkeit gemessen werden. Aus dem Trichtergefäß fließt das Medium via Dreiwegehahn zurück in das Vorratsgefäß, wo es von einem Magnetrührer in ständiger Bewegung gehalten wird. Die Temperatur im Innern der Perfusionsapparatur wird mittels Luftventilator und thermostatisch gesteuerter Heizspirale konstant auf 37°C. gehalten. Als Verbindung zwischen den einzelnen Teilen der Apparatur dienen Silikonschläuche

(3-4 mm ϕ), in denen mit Schlauchklemmen die Durchlaufgeschwindigkeit in dem betreffenden Abschnitt reguliert werden kann.

3,3. Perfusionsmedium: Dieses bestand aus gewaschenen Rindererythrozyten, die in einer Rinderse-
rumalbumin-Tyrodellösung suspendiert wurden. Die Mischung erfolgte kurz vor Beginn der Versuche. Zur Gewinnung der Erythrozyten wurde Bullenblut in einer Stabilisatorlösung aus Natriumcitrat (26,95 g/L.), Citronensäure (5,47 g/L.) und Glucose (26,95 g/L.) aufgefangen und in der PHYWE-P 6-Zentrifuge bei 3000 U./Min. zentrifugiert. Das überstehende Plasma und die Leukozyten wurden abgesaugt, die Erythrozyten in 0,9 %iger NaCl-Lösung suspendiert, zentrifugiert und der klare Überstand abgesaugt. Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt, sodaß schließlich eine relativ saubere Suspension von Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung erhalten wurde. Anstelle des von Schimassek benutzten hochgereinigten Rinderse-
rumalbumins wurde eine vorwiegend aus Albumin bestehende Proteinlösung verwendet, welche folgendermaßen gewonnen wurde: Durch ständiges Umrühren ungerinnbar gemachtes Bullenblut wurde in der PHYWE-P6-Zentrifuge bei 3000 U./Min. zentrifugiert und das überstehende Serum vorsichtig abgesaugt. In Dialysierschläuchen

(Kalle u. Co. Wiesbaden-Biebrich) wurde dieses Serum 5-6 Tage gegen entionisiertes Wasser dialysiert. Die dabei ausfallenden wasserunlöslichen Serumproteine wurden abzentrifugiert. Das destillierte Wasser in der Dialysierwanne wurde täglich erneuert. Die ausgefallenen Proteine wurden jeden zweiten Tag abzentrifugiert und der klare Überstand wieder in neue Dialysierschläuche gefüllt. So wurde schließlich ein Rinderserum erhalten, das vorwiegend Albumin enthielt. In diese Albuminlösung wurden dann die Bestandteile einer Tyrodelösung eingewogen. Der Eiweißgehalt der so hergestellten Albumin-Tyrodelösung wurde auf 3,9 g% eingestellt. Die Proteinbestimmung erfolgte mit Biuret-Reagens, die Einstellung der erforderlichen Konzentration durch Zugabe von wäßriger Tyrodelösung oder von friergetrocknetem Rinderserumalbumin.

3,4. Analysen:

3,4,1. Kalium wurde flammenphotometrisch am

EEL Flammenphotometer MARK II bestimmt.

3,4,2. β -Glucuronidase wurde nach Fishman et al., im Mikrolitersystem bestimmt:

Ansatz: 0,1 ml Perfusionsserum + 0,1 ml einer 0,01 M Phenolphthalein-Glucuronid-Na-Salz-Lösung in Na-Acetatpuffer pH 4,5 + 0,4 ml Na-Acetatpuffer pH 4,5.

Dieser Ansatz wurde 15 Stunden lang bei

37°C. inkubiert, dann wurde durch Zugabe von jeweils 0,5 ml Trichloressigsäure das Protein ausgefällt und abzentrifugiert. Im klaren Überstand wurde Extinktion 546 nm in 1 cm - Küvetten am Eppendorf-Photometer gemessen;

Messung: 1,2 ml Aqua dest. +

1,5 ml alkalisches Reaktionsgemisch +

0,5 ml Probe

Zu Beginn aller Versuche befanden sich 100 ml Perfusionsmedium im Vorratsgefäß. Während der gewöhnlich dreistündigen Perfusionen verringerte sich diese Menge durch Probeentnahmen nach jeder halben Stunde auf ca. 85 ml. Die erste Probe wurde direkt nach dem Einlegen der Leber in die Perfusionsapparatur entnommen. Während der ersten halben Stunde der Perfusion sollte jede Leber ihr durch die Präparation gestörtes Stoffwechselgleichgewicht wieder regulieren. Dann wurde Probe 1 entnommen und sofort danach das Phalloidin in 1 ml Tyrodelösung direkt oberhalb der Leber in den Pfortaderkatheter injiziert. Die als Gegenmittel zu untersuchenden Substanzen wurden in das Vorratsgefäß gegeben.

3. E R G E B N I S S E

1. Hemmung des K^+ - Verlustes der perfundierten Rattenleber durch Pharmaka.

1,1. T h i o c t s ä u r e

In Abb. 1-4 ist das Ergebnis der Versuche mit Thioctsäure wiedergegeben. Abb. 1 zeigt, daß die Zugabe von 0,56 mg Phalloidin in das Perfusionsmedium einer isolierten Rattenleber zu einem raschen und steilen Anstieg der K^+ -Konzentration im Perfusionsserum führte. Bei diesen, als Kontrollen dienenden Versuchen ist die Streuung eingezeichnet. Nicht vergiftete Lebern gaben nur einen kleinen Teil ihres K^+ an das Perfusionsmedium ab (Kurve N). Die Zugabe von 10 mg Thioctsäure zu einer normalen, nicht vergifteten Leber führte selbst bereits zu einem deutlichen Anstieg der K^+ -Konzentration im Perfusionsmedium. Abb. 2 zeigt, daß der K^+ -Verlust vergifteter Lebern nach Vorbehandlung mit Thioctsäure gegenüber den Kontrollen deutlich geringer war. In der Abb. 3 ist das Ergebnis einiger Versuche dargestellt, die zur Ermittlung der optimalen Dosis Thioctsäure durchgeführt wurden. Der besseren Übersicht wegen

sind nur drei Versuche mit verschiedenen Dosen eingezeichnet. Während 5 mg Thioctsäure den K^+ -Efflux kaum beeinflussten, bewirkten 10 mg schon eine starke Hemmung der K^+ - Abgabe an das Perfusionsmedium. 20 mg hemmten den K^+ - Ausstrom nur noch mäßig, sodaß im Hinblick auf die Freisetzung von K^+ das Optimum der Schutzwirkung bei 10 mg lag. Diese Dosis wurde bei allen weiteren Versuchen mit Thioctsäure eingesetzt. Nachdem die optimale Dosis mit 10 mg Thioctsäure feststand, mußte die zeitliche Abhängigkeit untersucht werden. Wie Abb. 4 zeigt, hemmte Thioctsäure den K^+ - Ausstrom aus der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber nicht mehr, wenn sie 25 Minuten nach der Zugabe des Giftes gegeben wurde. Eine mäßige Hemmung fand noch statt, wenn das Mittel 15 Minuten nach der Vergiftung gegeben wurde. Am wirksamsten wurden die Lebern gegen den K^+ - Verlust nach der Vergiftung mit Phalloidin geschützt, wenn 10 mg Thioctsäure 2 Minuten nach der Giftzugabe verabreicht wurden.

Zu Abb.1

Freisetzung von Kalium aus der perfundierten Ratten-
leber.

Abszisse: Perfusionsdauer in Stunden

Ordinate: K^+ - Konzentration im Serum des Perfusions-
mediums in mval/L.

K = Vergiftung mit 0,56 mg Phalloidin (Kontrollen).

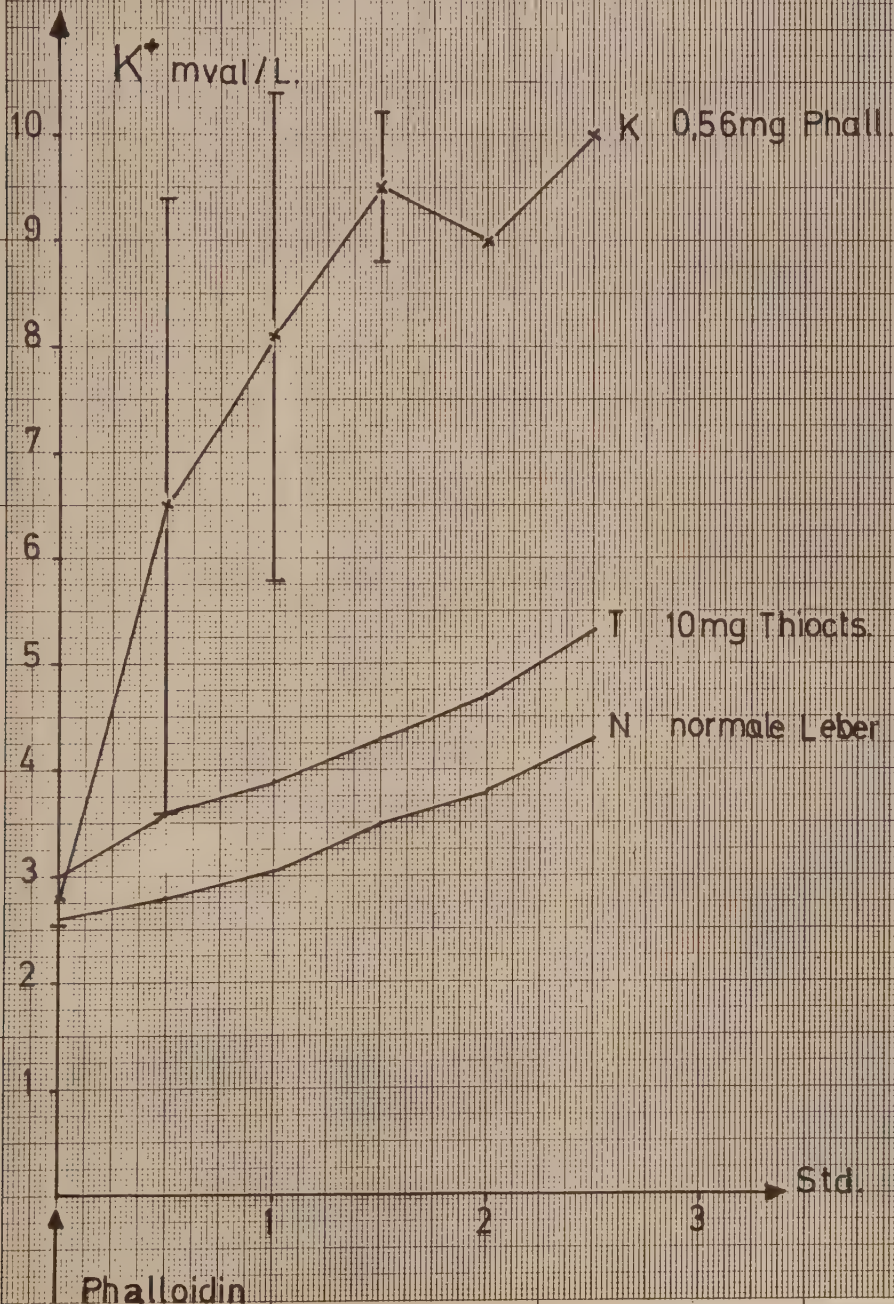
N = Normale Leber ohne Zugabe von Phalloidin oder
Thioctsäure.

T = Gabe von 10 mg Thioctsäure zu einer normalen, d. h.
nicht vergifteten Leber.

Die Zugabe von Phalloidin in den Pfortaderkatheter
und von Thioctsäure in das Vorratsgefäß erfolgte
zum Zeitpunkt 0.

Die Dosis von 10 mg Thioctsäure (MG. 220,34) zu
100 ml Perfusionsmedium entsprach einer Konzen-
tration von $4,53 \times 10^{-4}$ m/L.

Abb. 1

Freisetzung von Kalium aus der
perfundierten Rattenleber

Zu Abb. 2

Hemmung der K^+ - freisetzenden Wirkung des Phalloi-
dins durch Vorbehandlung mit Thiooctsäure.

Abszisse: Perfusionsdauer in Stunden

Ordinate: K^+ - Konzentration im Serum des Perfusions-
mediums in mval/L.

(Die für Abszisse und Ordinate gegebenen Erklärungen
gelten für sämtliche in dieser Arbeit gezeigten Abb.)

K = Kontrollen

N = Normale Leber

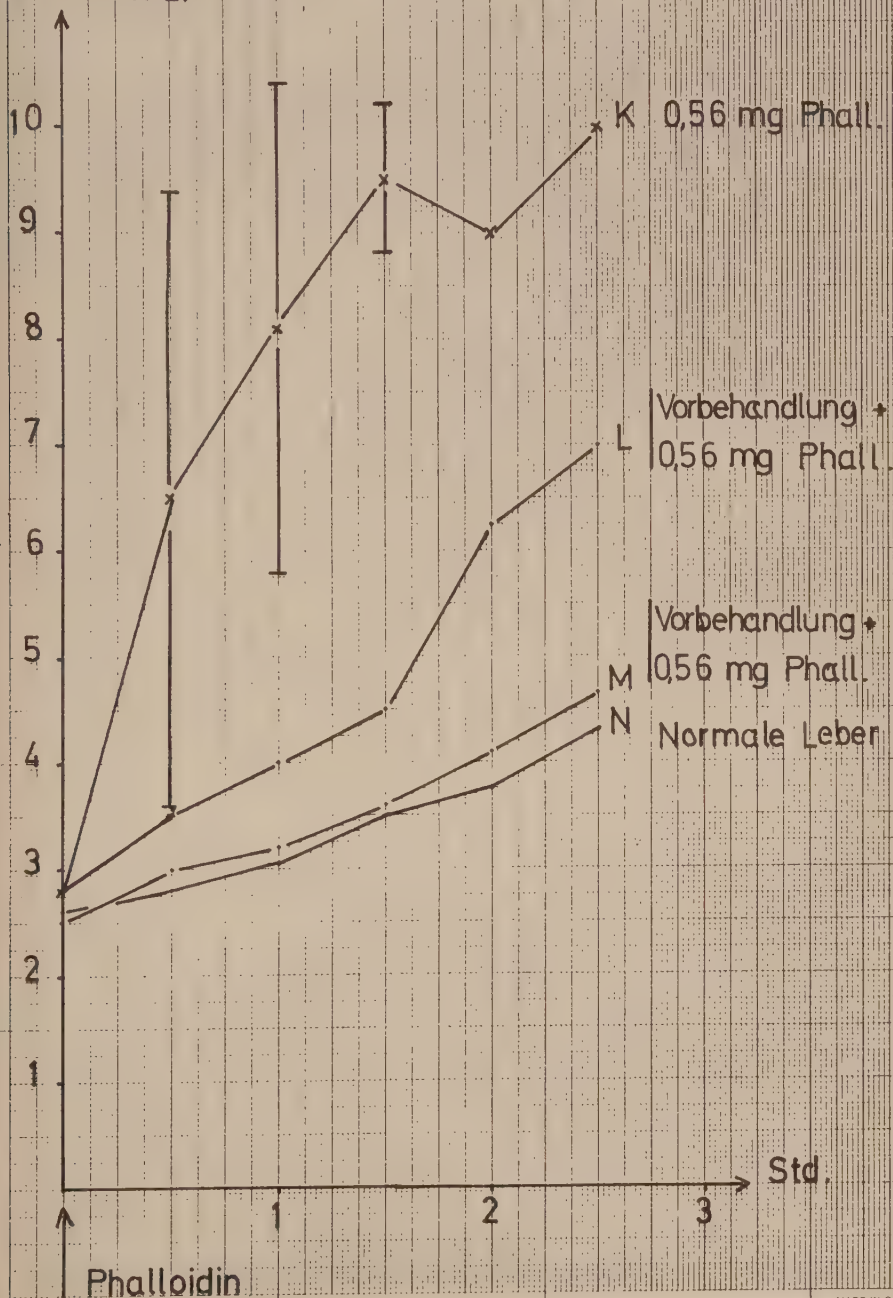
L = Vorbehandlung mit Thiooctsäure (4 Tage lang 2xtgl.
25 mg/Kg. i.m.), Vergiftung im Zeitpunkt 0.

M = Vorbehandlung mit Thiooctsäure (16 Std. vor der
Vergiftung 50 mg i.m., weitere 50 mg i.v. eine
Stunde vor Der Giftzugabe und 25 mg sofort
nach der Vergiftung in das Perfusionsmedium)

100 ml Perfusionsmedium

Abb.2

Hemmung der K^+ -Freisetzung nach
Phalloidin durch Vorbehandlung
mit Thioctsäure.

 K^+ mval/L.


Phalloidin

Std.

Zu Abb. 3.

Wirkung verschiedener Dosen Thioctsäure auf den
K⁺- Verlust der mit Phalloidin vergifteten isolier-
ten Rattenleber.

K = Kontrollen

N = Normale Leber

A = Vergiftung mit Phalloidin im Zeitpunkt 0 und
sofort danach Zugabe von 5 mg Thioctsäure, Phal-
loidin in den Einlaufkatheter, Thioctsäure in
das Vorratsgefäß.

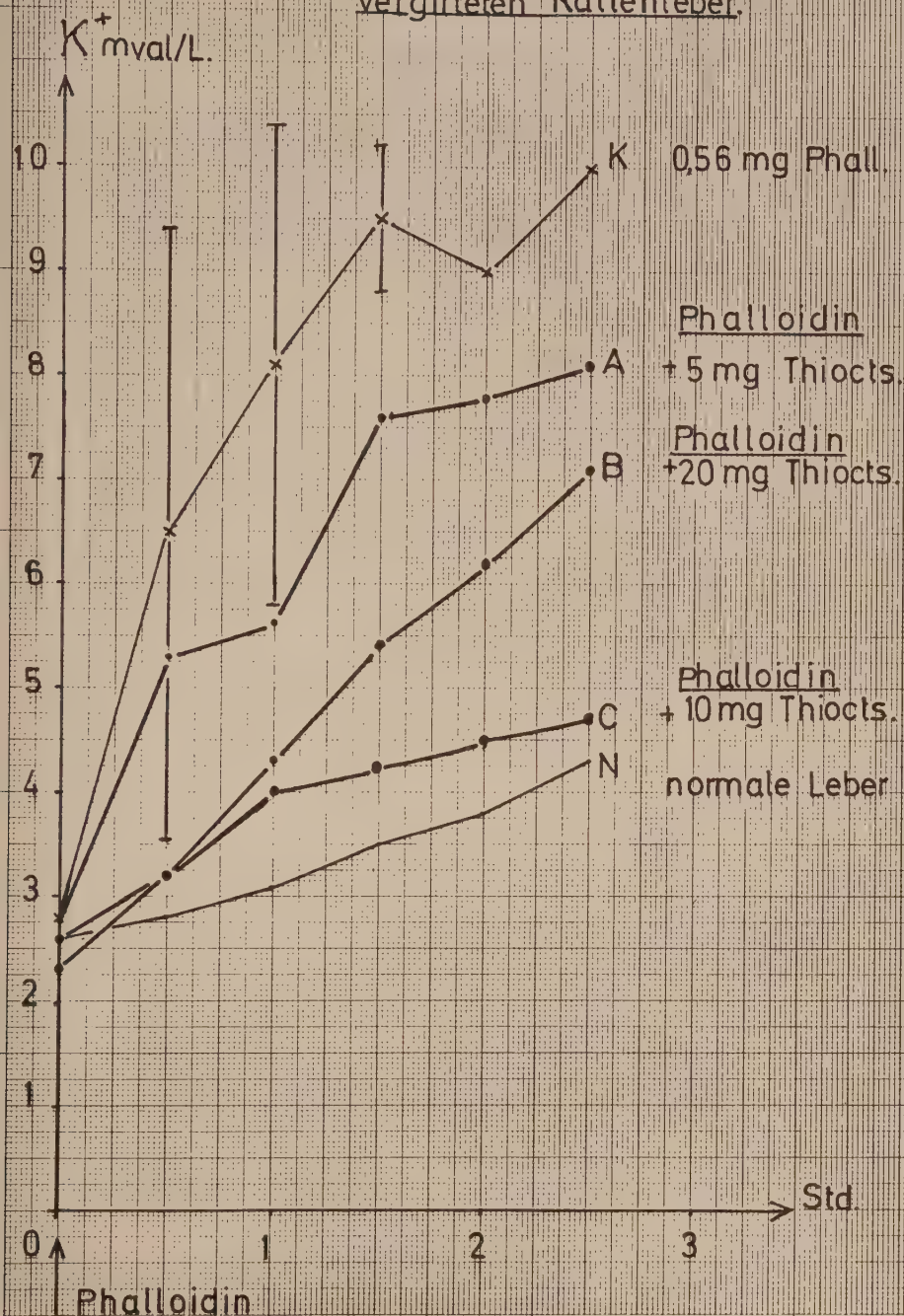
B = Vergiftung im Zeitpunkt 0 und sofort danach
Gabe von 20 mg Thioctsäure in das Vorratsgefäß.

C = Vergiftung im Zeitpunkt 0 mit 0,56 mg Phalloidin
und sofortige Gabe von 10 mg Thioctsäure.

100 ml Perfusionsmedium

Abb. 3

Wirkung verschiedener Dosen Thioctsäure
auf den K^+ -Verlust der mit Phalloidin
vergifteten Rattenleber.



Zu Abb. 4

K⁺ - Konzentration im Serum des Perfusionsmediums
bei Gabe von 0,56 mg Phalloidin und 10 mg Thioct-
säure zu verschiedenen Zeiten nach Giftzugabe.

K = Kontrollen

N = Normale Leber

A = Vergiftung im Zeitpunkt 0 und Gabe von 10 mg
Thioctsäure 25 Minuten danach.

B = Vergiftung im Zeitpunkt 0 und Gabe von 10 mg
Thioctsäure 15 Minuten danach.

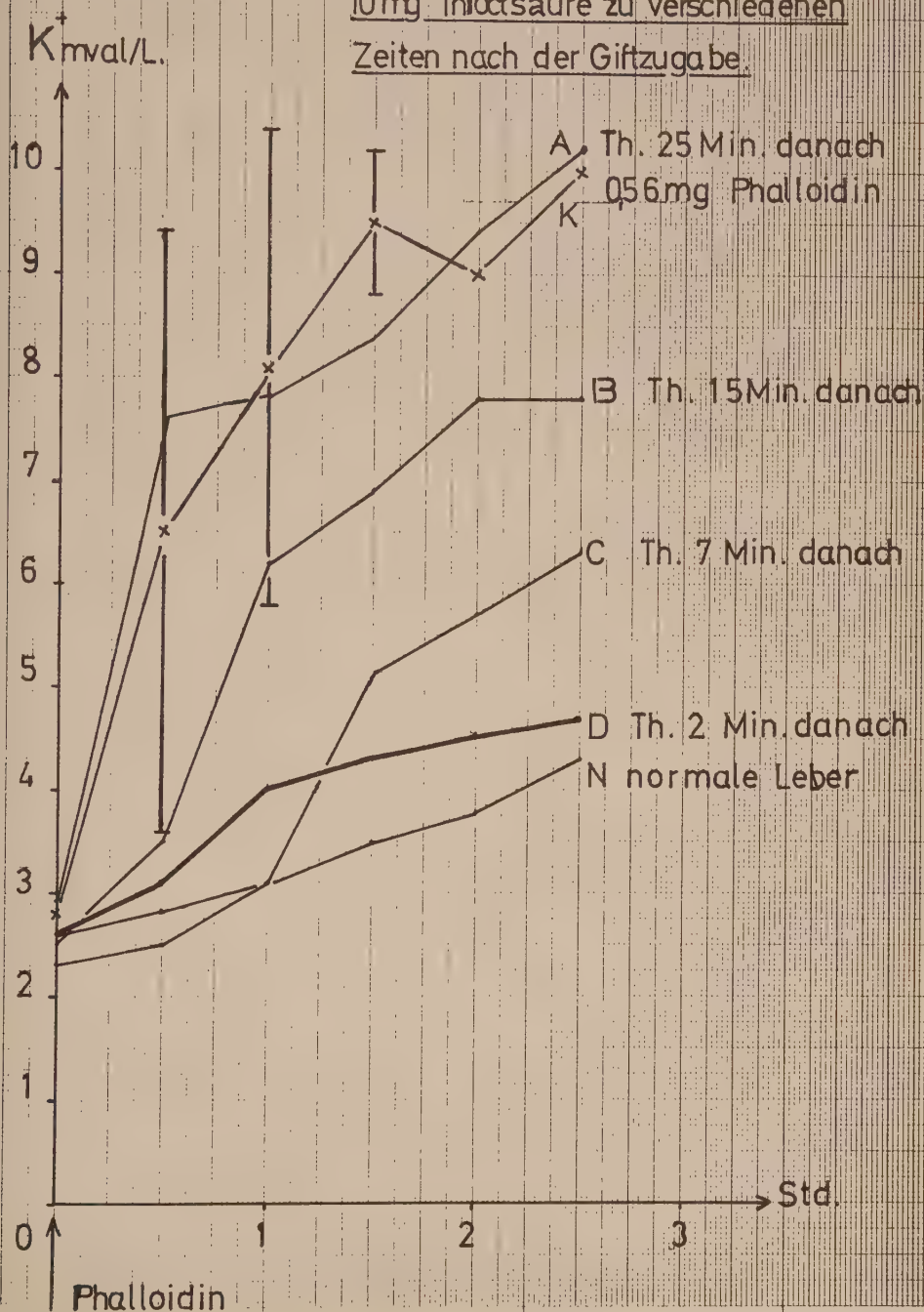
C = Vergiftung im Zeitpunkt 0 und Gabe von 10 mg
Thioctsäure 7 Minuten danach.

D = Vergiftung im Zeitpunkt 0 und Zugabe von 10 mg
Thioctsäure 2 Minuten danach

100 ml Perfusionsmedium

Abb. 4

K⁺-Konzentration im Leberperfusat
bei Gabe von 0,56 mg Phalloidin und
10 mg Thioctsäure zu verschiedenen
Zeiten nach der Giftzugabe.



1,2. D i t h i o p r o p a n o l (B A L)

Da bei der Thioctsäure die Dosis von 10 mg optimal wirkte, wurde für die ersten Versuche mit B A L eine Konzentration gleicher Molartät gewählt. Bei einem Molekulargewicht von 124,23 mußten also 5,6 mg B A L eingesetzt werden. Diese wurden in 0,5 ml Äthanol gelöst. Wie Vorversuche ergeben hatten, beeinflußt Äthanol in 0,5 %iger Konzentration den K^+ -Austritt aus der isoliert perfundierten Leber nicht.

Abb. 5 zeigt, daß 5,6 mg B A L den Kalium-efflux aus der vergifteten Leber in der ersten halben Stunde nach der Giftzugabe fast nicht hemmten, jedoch im weiteren Verlauf der Vergiftung einen totalen K^+ -Verlust verhinderten. Bei einer Dosis von 2,8 mg schützte B A L die vergifteten Lebern noch besser gegen den K^+ -Verlust, während 1,4 mg B A L keinen Schutzeffekt mehr zeigten.

Zu Abb. 5

Wirkung verschiedener Dosen B A L
auf den K^+ -Verlust der mit Phalloidin
vergifteten isolierten Rattenleber.

K = Kontrollen

N = Normale Leber

A = Vergiftung und Gabe von 1,4 mg B A L

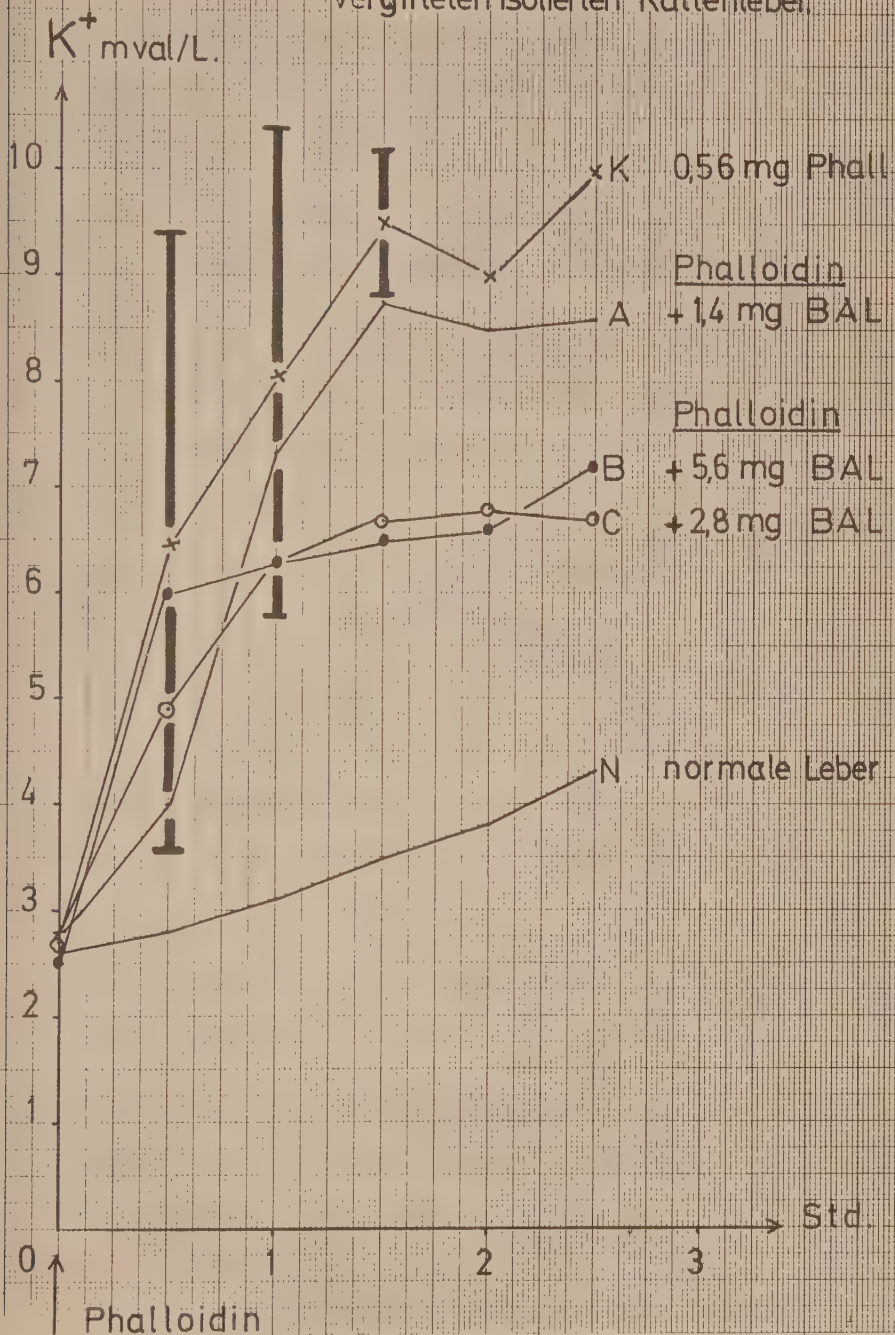
B = Vergiftung und Gabe von 5,6 mg B A L

C = Vergiftung und Gabe von 2,8 mg B A L

Vergiftung erfolgte jeweils zum Zeitpunkt 0.
B A L wurde, in 0,5 ml Äthanol gelöst, 2 Mi-
nuten nach der Giftzugabe tropfenweise in
das Vorratsgefäß gegeben.

100 ml Medium

Abb. 5 Wirkung verschiedener Dosen-BAL- auf den K^+ -Verlust der mit Phalloidin vergifteten isolierten Rattenleber.



1,3. DL - Cystein - hydrochlorid - Monohydrat

Bei einem Molekulargewicht von 175,64 wären 7,9 mg mit der optimalen Dosis Thioctsäure vergleichbar. Da es jedoch auf die gleiche Anzahl SH-Gruppen ankam, wurden 15,8 mg Cystein als Anfangsdosis eingesetzt. Wie Abb. 6 zeigt, hemmten 15,8 mg Cystein den K^+ - Efflux deutlich, während 10 mg und 5 mg diese günstige Wirkung nicht mehr hatten. Da Cystein einen K^+ - liberierenden Effekt auf die Erythrozyten haben soll, wurde der Verlauf der K^+ - Konzentration nicht nur im Plasma, sondern auch in den Erythrozyten des Perfusionsmediums untersucht. Wie Abb. 7 zeigt, nahm die K^+ - Konzentration im Erythrozyten-sediment nach Gabe von 15,8 mg Cystein ab, während sie gleichzeitig im Plasma zunahm. In Abb. 7a ist einer der Versuche wiedergegeben, bei welchen nach Vergiftung mit Phalloidin und Zugabe von Cystein die K^+ - Konzentration im Plasma und in den Erythrozyten gleichzeitig gemessen wurde. Auch hier wurde eine Abnahme der K^+ - Konzentration in den Erythrozyten festgestellt. Um die Wirkung von Cystein als Phalloidinantagonist richtig zu beurteilen, wären die im Plasma gemessenen Werte um den Anteil des aus den Erythrozyten freigesetzten K^+ zu verringern.

Zu Abb. 6

Hemmung des K^+ - Verlustes der mit Phalloidin
vergifteten isolierten Rattenleber durch ver-
schiedene Dosen Cystein.

K = Kontrollen

N = Normale Leber

A = Vergiftung und Gabe von 10 mg Cystein

B = Vergiftung und Gabe von 5 mg Cystein

C = Vergiftung und Gabe von 15,8 mg Cystein

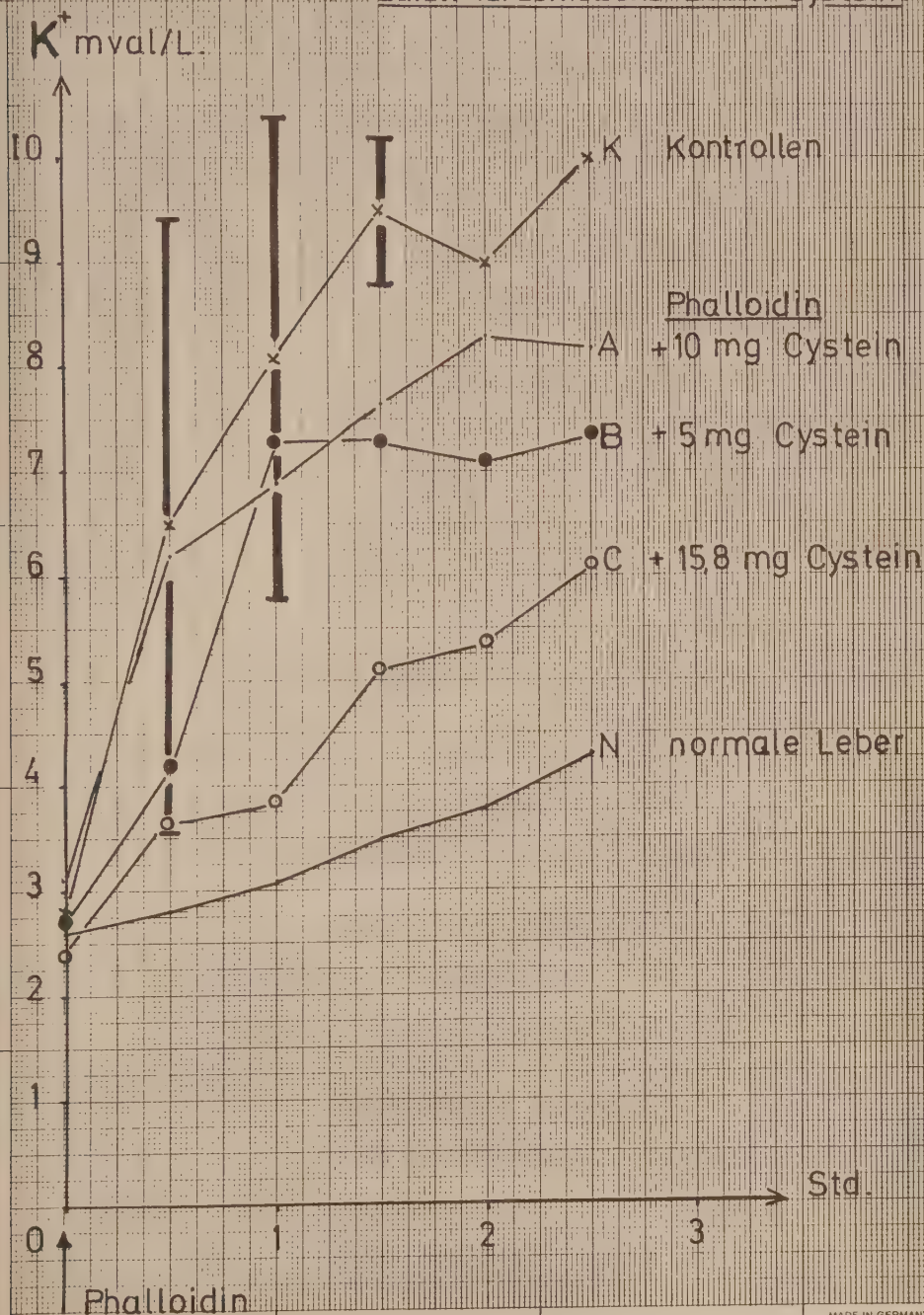
Vergiftung erfolgte im Zeitpunkt 0.

Cystein wurde 2 Minuten nach der Giftzugabe,
in 1 ml Tyrodelösg. gelöst, in das Vorratsge-
fäß gegeben.

100 ml Perfusionsmedium

Abb.6

Hemmung des K^+ -Verlustes der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber durch verschiedene Dosen Cystein.



Zu Abb. 7

Freisetzung von K^+ aus den Erythrozyten des
Perfusionsmediums durch Zugabe von Cystein.

P = Kaliumkonzentration in dem Plasma

E = Kaliumkonzentration in den Erythrozyten

15,8 mg Cystein wurden nach Vorperfusion von
30 Minuten in das Medium gegeben.

100 ml Perfusionsmedium

Zu Abb. 7a

K^+ - Konzentration in Plasma und Erythrozyten
des Perfusionsmediums bei Gabe von 0,56 mg
Phalloidin und 15,8 mg Cystein.

P = Konzentration im Plasma

E = Konzentration in den Erythrozyten

Vergiftung erfolgte im Zeitpunkt 0, Zugabe
von Cystein 2 Minuten danach.

100 ml Perfusionsmedium

Abb.7

Freisetzung von K^+ aus Erythrozyten durch Cystein.
 K^+ Konzentrationen in Plasma
und Erythrozyten des Perf.
Mediums.

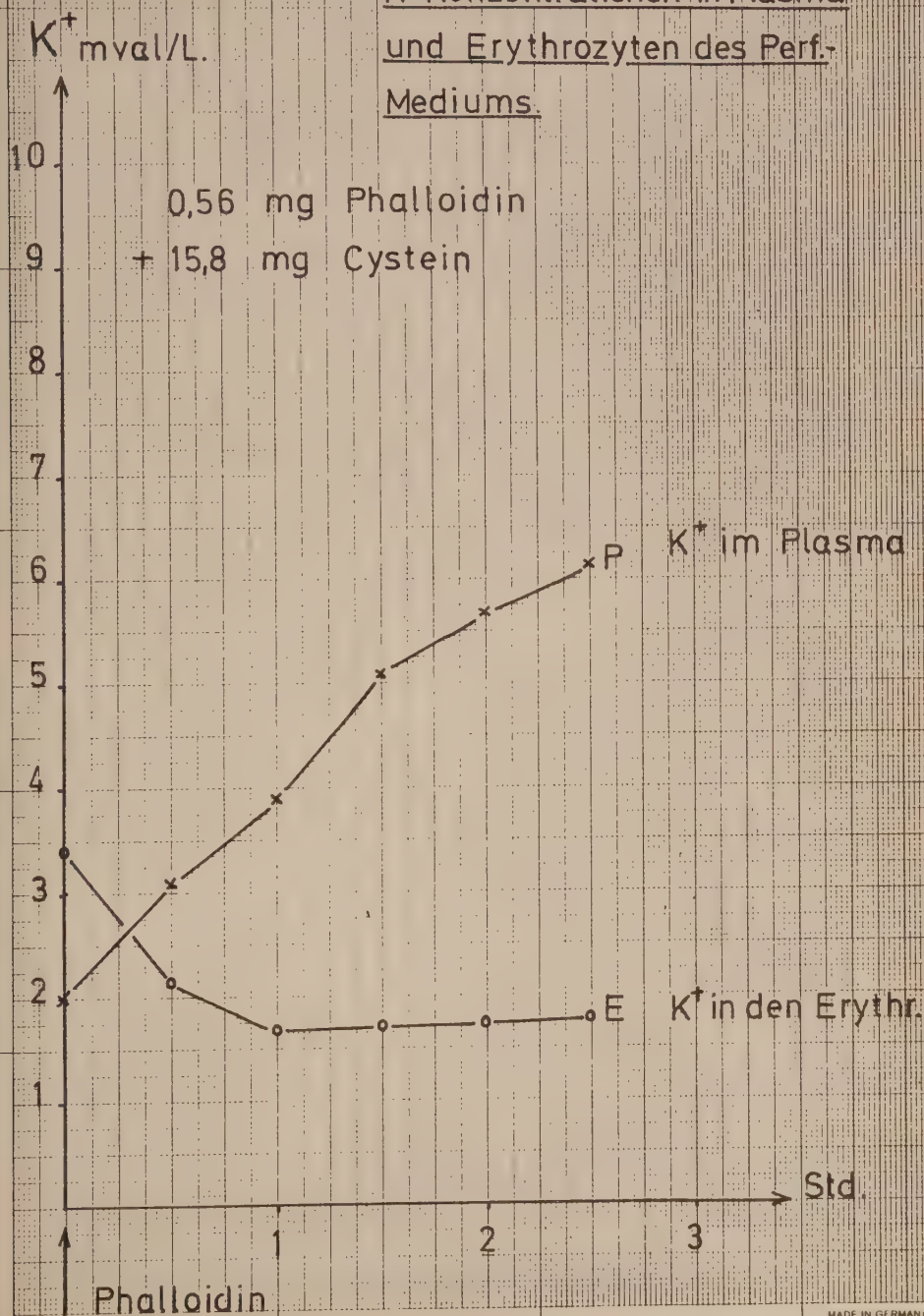
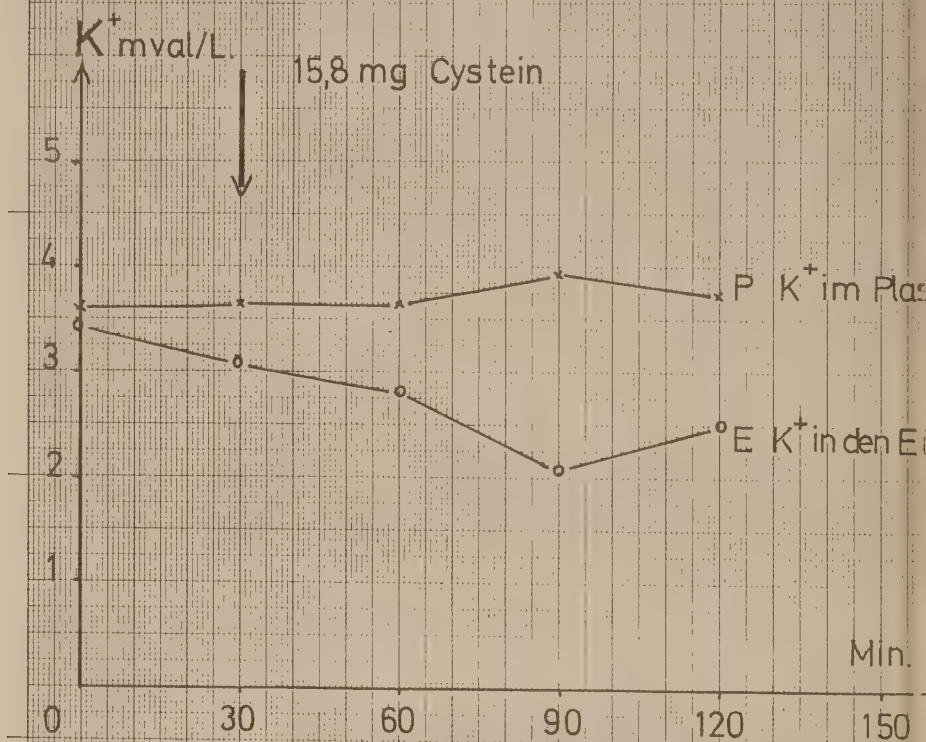


Abb. 7a

Freisetzung von K^+ aus den Erythrozyten des Perfusionsmediums durch Cystein.



1,4, Cysteamin - Hydrochlorid

Da das Cysteamin bei einem MG. von 113,61 nur eine SH-Gruppe im Molekül besitzt, mußten 10,3 mg dieser Substanz eingesetzt werden, um eine Molarität von $4,53 \times 10^{-4}$ zu erhalten.

Abb.8 zeigt, daß die Schutzwirkung von Cysteamin gegen den K^+ -Verlust der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber nicht sehr deutlich war (zumindest während der ersten halben Stunde der Vergiftung). Im weiteren Verlauf war jedoch eine gewisse Hemmung festzustellen, besonders bei der Dosis von 10,3 mg.

Zu Abb.8

Hemmung des K^+ -Verlustes durch Cysteamin.

K = Kontrollen

N = Normale Leber

A = Vergiftung und Gabe von 20,6 mg Cysteamin

B = Vergiftung und Gabe von 5,15 mg Cysteamin

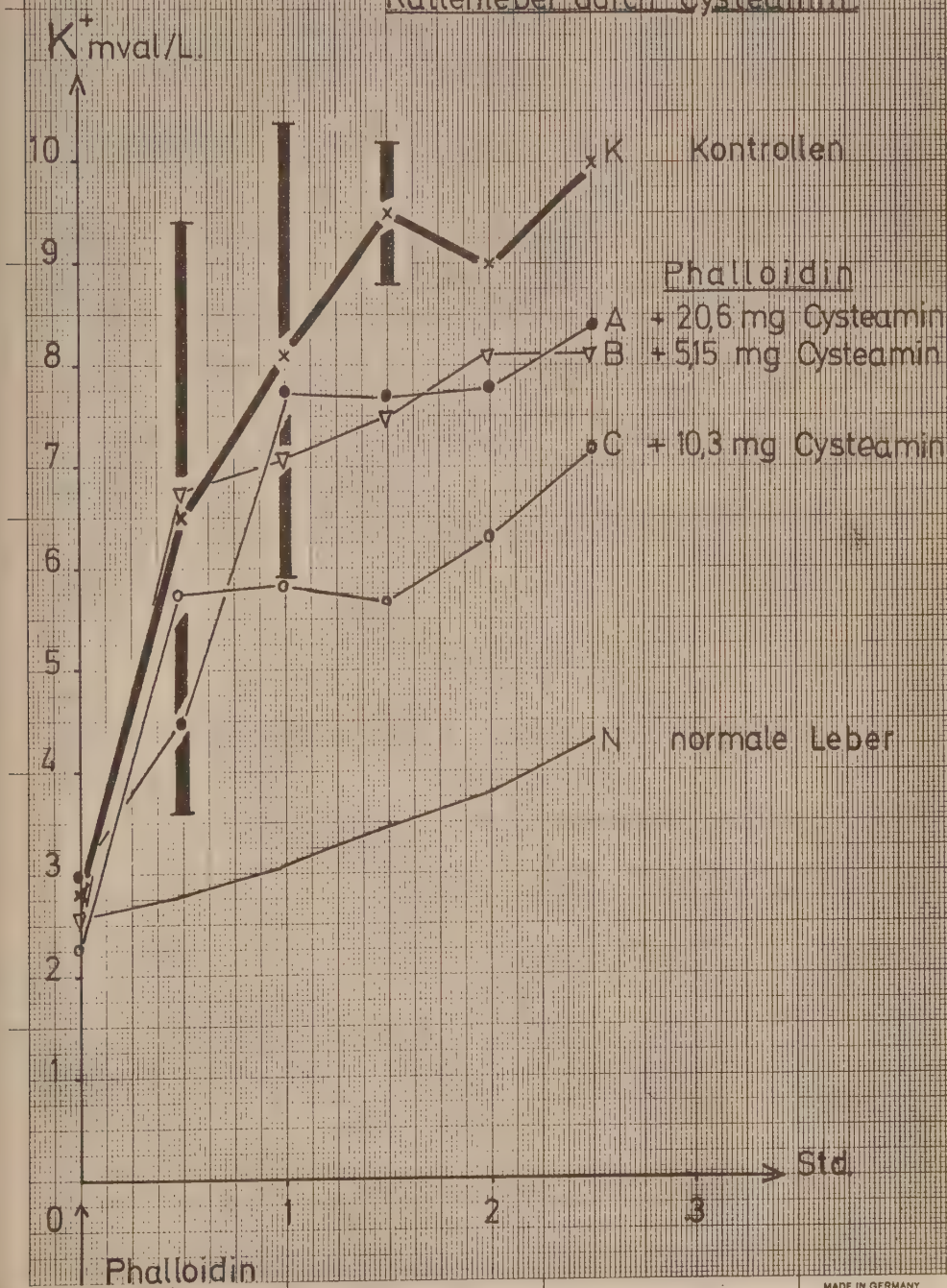
C = Vergiftung und Gabe von 10,3 mg Cysteamin

Vergiftung im Zeitpunkt 0, Cysteamin 2 Min. danach

100 ml Perfusionsmedium

Abb. 8

Hemmung des K^+ -Verlustes der
mit Phalloidin vergifteten isolierten
Rattenleber durch Cysteamin



1,5, Acetyl - homocystein -
Thiolacton

Diese Substanz zeichnet sich im Vergleich zum Cystein und Cysteamin durch größere Stabilität aus. Sie ist ebensogut wie diese in Wasser löslich. Sie enthält in ihrem Molekül eine SH-Gruppe, sodaß zunächst 16 mg einzusetzen waren. Abb. 9 zeigt, daß diese Dosis bereits eine deutliche Hemmung des K^+ -Verlustes bewirkte. Bei einer Dosis von 32 mg wurde dieser Effekt noch deutlicher, während 8 mg keinen Einfluß mehr hatten.

Zu Abb. 9

Hemmung des K^+ -Verlustes der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber durch verschiedene Dosen Acetyl-homocystein-Thiolacton.

K = Kontrollen

N = Normale Leber

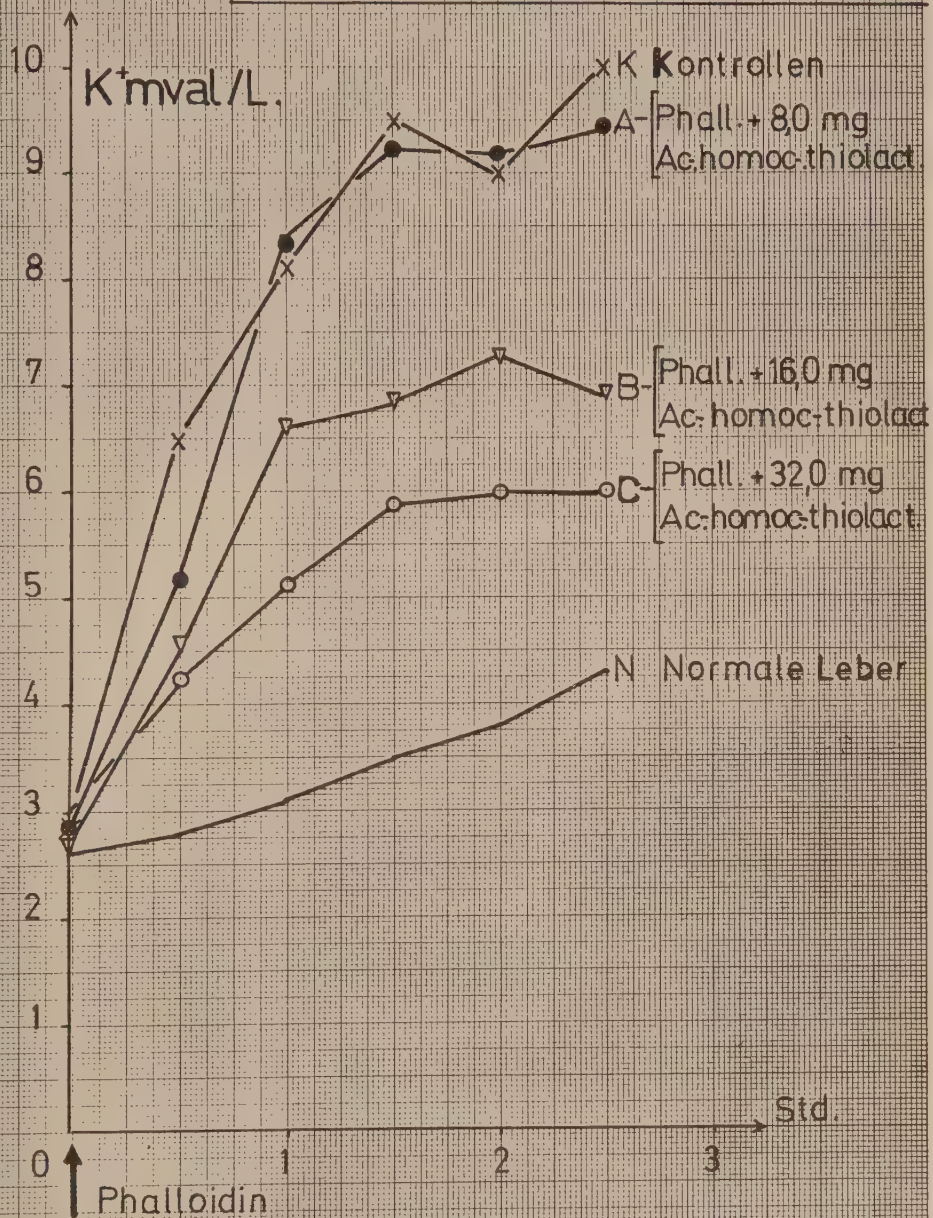
A = Gabe von 8 mg Homocystein nach Phalloidin

B = Gabe von 16 mg Homocystein nach Phalloidin

C = Gabe von 32 mg Homocystein nach Phalloidin

100 ml Perfusionsmedium

Abb. 9 Hemmung des K^+ -Verlustes der isolierten Rattenleber bei der Phalloidinvergiftung durch ACETYL-HOMOCYSTEIN-THIOLACTON



1,6: C o e n z y m A

Coenzym A wurde jeweils in 1 ml Tyrodelösung in das Vorratsgefäß gegeben.

Wie Abb. 10 zeigt, hemmten 5 mg Coenzym A den K^+ -Verlust der vergifteten Leber am besten. Bei Gabe von 2 mg und 0,5 mg Coenzym A gaben die vergifteten Lebern in der ersten Stunde nach der Giftzugabe zunächst K^+ in das Perfusionsmedium ab, wurden jedoch im weiteren Verlauf der Vergiftung gegen einen totalen Kaliumverlust deutlich geschützt.

Zu Abb. 10

K = Kontrollen

N = Normale Leber

A = Vergiftet und Gabe von 2 mg CoA

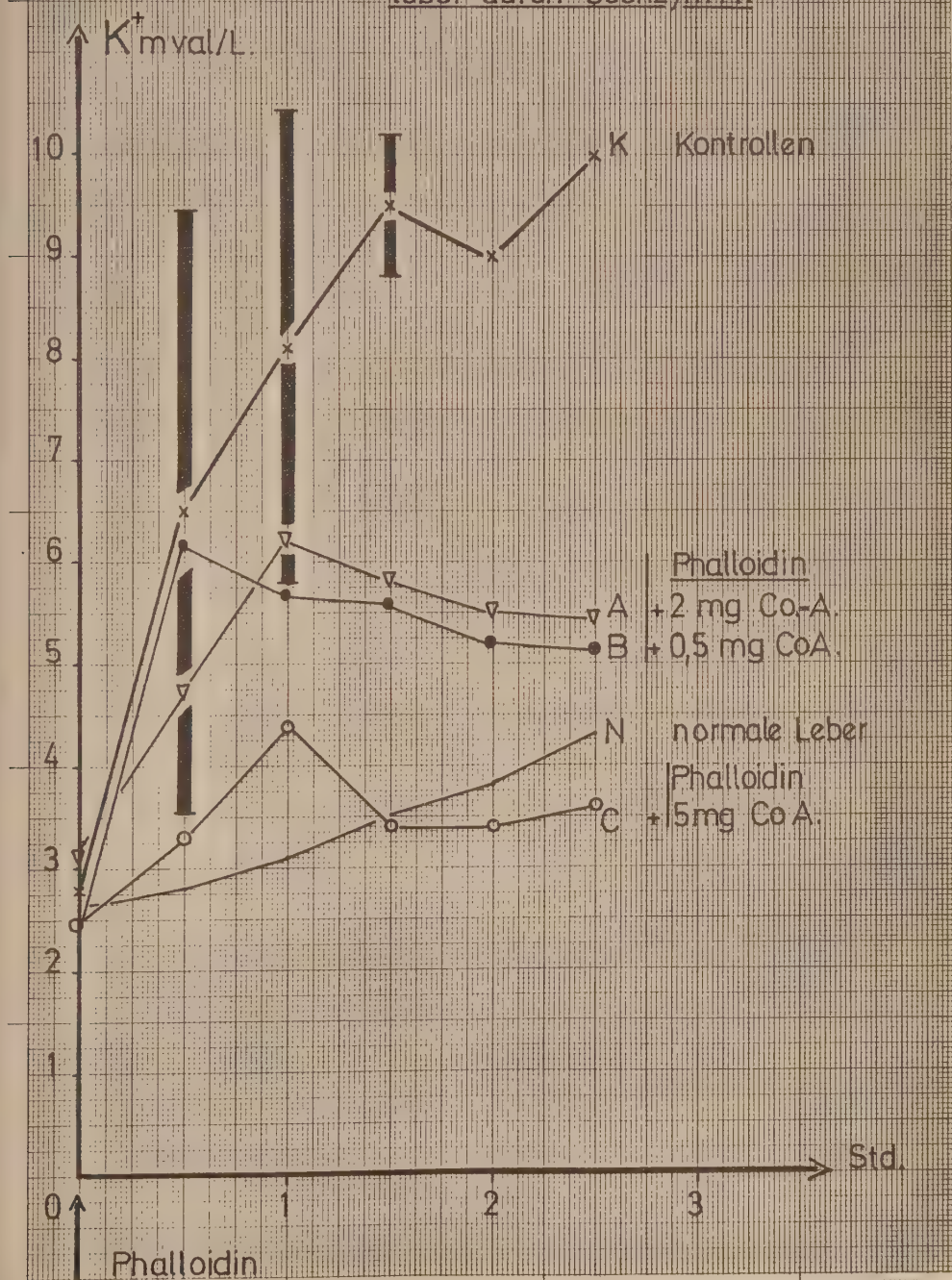
B = Vergiftet und Gabe von 0,5 mg CoA

C = Vergiftet und Gabe von 5 mg CoA

100 ml Perfusionsmedium

Abb.10

Hemmung des K^+ -Verlustes der mit Phalloidin vergifteten isolierten Rattenleber durch Coenzym A.



1,7. Silymarin

Diese Substanz ist in Wasser unlöslich. In Äthanol lassen sich nicht mehr als 6,5 mg in 0,5 ml lösen. Da es in dieser Dosierung nur einen geringen Schutzeffekt hatte, wurde Silymarin folgendermaßen gelöst: Eine alkoholische Silymarinlösung wurde in eine 5 %ige Albuminlösung eingerührt und diese dann friertrocknet. In 12,11 mg der so erhaltenen gut wasserlöslichen Substanz war 1 mg Silymarin enthalten. So konnte die Benutzung von Lösungsvermittlern vermieden werden. Abb. 11 zeigt das Ergebnis der Versuche mit Silymarin. Dabei ist eine deutliche Abhängigkeit der Wirkung von der Höhe der Dosis zu erkennen. 30 mg hemmten den Kaliumverlust am besten, während 5 mg keine Schutzwirkung mehr hatten.

Zu Abb. 11

Wirkung von Silymarin auf den Kaliumverlust
der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber.

K = Kontrollen

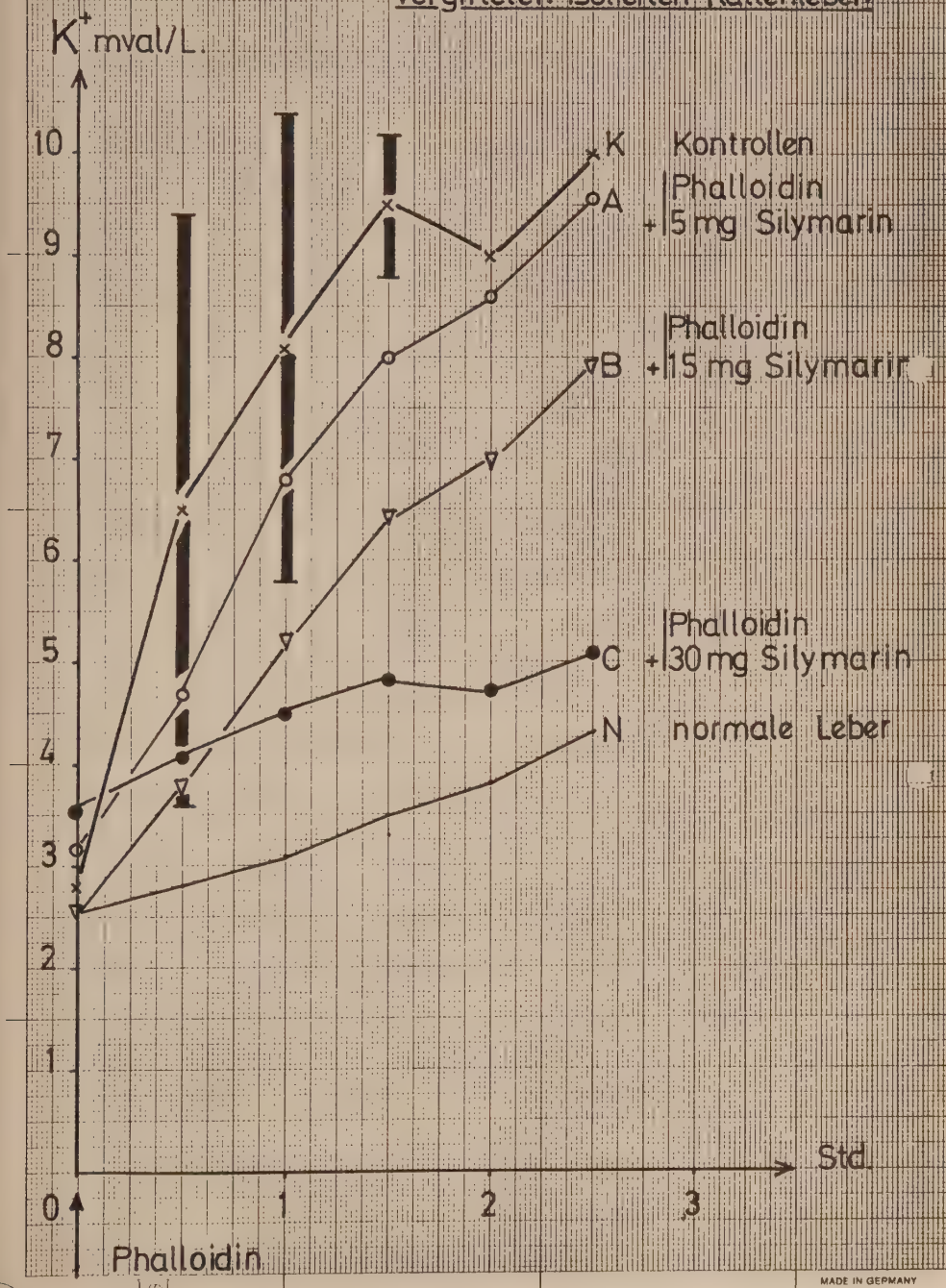
N = Normale Leber

A = Gabe von 5 mg Silym. B = Gabe von 15 mg S.

C = Gabe von 30 mg S. 100 ml Medium

Abb. 11

Wirkung von Silymarin auf den
 K^+ -Verlust der akut mit Phalloidin
vergifteten isolierten Rattenleber.



1,8, D i m e t h y l s u l f o x i d (DMSO)

D M S O wurde in den in Abb.12 angegebenen Dosen direkt ins Vorratsgefäß gegeben. Dabei zeigte sich eine deutliche Beziehung zwischen der Höhe der Dosis und dem Grade der Hemmung des Kaliumaustrittes aus der vergifteten Leber. Bei Gabe von 0,5 ml D M S O verlor die Leber kaum mehr Kalium, als sie bei normaler Perfusion ohne Phalloidin an das Perfusat abgibt. Bei 0,35 ml D M S O war immer noch ein Schutzeffekt vorhanden, besonders während der ersten Stunde der Vergiftung. Wie die Kurve B zeigt, liegen aber auch die Werte gegen Ende der Perfusion noch deutlich unter den Kontrollen. Wurde D M S O in einer Dosis von 0,1 ml gegeben, so konnte nicht nur kein Hemmeffekt auf den Kaliumverlust mehr festgestellt werden, sondern es trat ein totaler Kaliumausstrom aus der vergifteten Leber ein. Wie die Kurve A zeigt, war schon in der ersten halben Stunde der Vergiftung ein Konzentrationsausgleich zwischen Leber und Perfusionsmedium eingetreten. Der Halbstundenwert nach Phalloidin lag sogar über dem oberen Wert der Streuung der Kontrollen.

Zu Abb. 12

K = Kontrollen (0,56 mg Phalloidin)

N = Normale Leber (kein Phalloidin, unbehandelt)

A = Vergiftung und Gabe von 0,1 ml D M S O

B = Vergiftung und Gabe von 0,35 ml D M S O

C = Vergiftung und Gabe von 0,5 ml D M S O

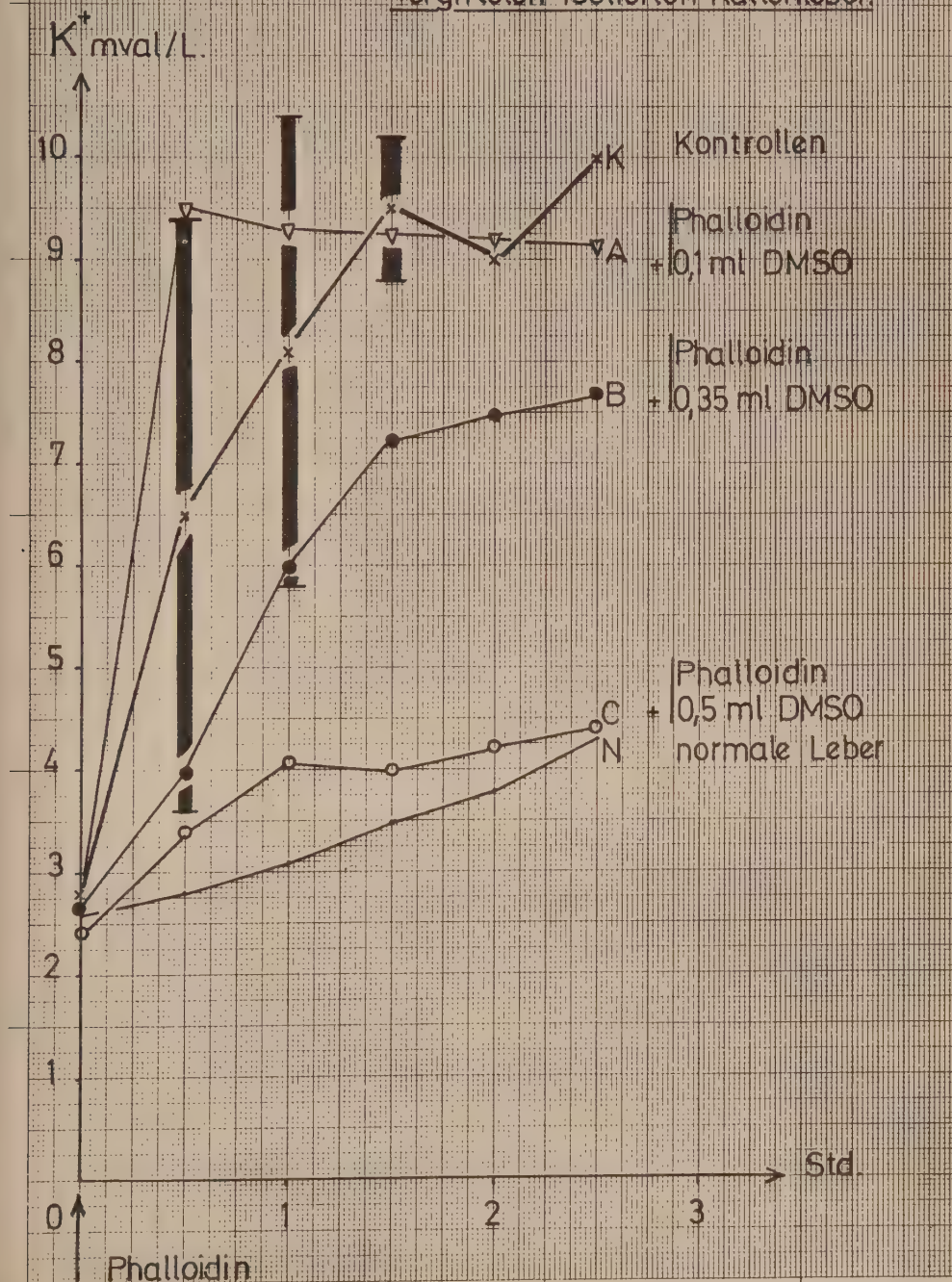
Vergiftung erfolgte im Zeitpunkt 0,

D M S O wurde 2 Minuten danach ins Vorrats-
gefäß gegeben.

100 ml Perfusionsmedium

Abb.12

Wirkung von Dimethylsulfoxyd auf
den K^+ -Verlust der mit Phalloidin
vergifteten isolierten Rattenleber.



1,9. Temoebilin

Es wurde Temoebilin-Konzentrat verwendet. Dieses enthielt neben der eigentlichen Wirksubstanz, dem p-Tolylmethylcarbinol (p-TMC), als Lösungsvermittler Tween 20. Das Konzentrat war mit Tyrodelösung im Verhältnis 1:10 mischbar. Es wurden zunächst 187 mg in 2 ml Tyrodelösung gegeben (entspr. 1 mg p-TMC).

Wie die Kurve C in Abb. 13 zeigt, wurde bei dieser Dosierung der K^+ -Efflux deutlich gehemmt. Diese Wirkung wurde geringer, wenn 93,5 mg oder 46,75 mg gegeben wurden. Aber selbst bei der kleinsten Dosis (Kurve A) konnte noch ein totaler K^+ -Verlust verhindert werden. Wurde die optimale Dosis von 187 mg noch erhöht, so trat Hämolyse ein, was auf die Wirkung des Lösungsvermittlers zurückzuführen war.

Zu Abb. 13

Hemmung des Kaliumverlustes der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber durch Temoebilin.

K = Kontrollen N = Normale Leber

A = Vergiftung und Gabe von 46,75 mg Temoebilin

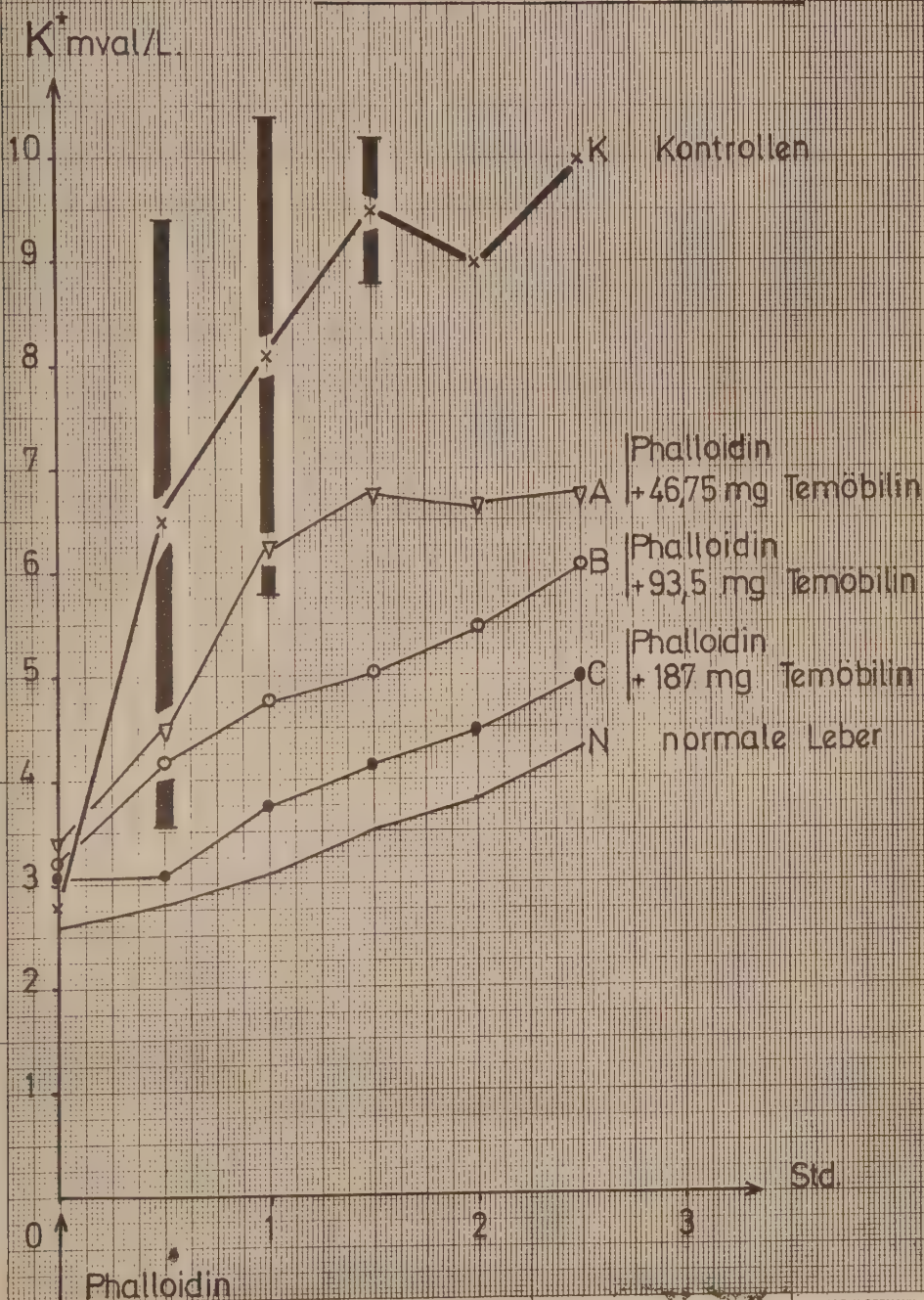
B = Vergiftung und Gabe von 93,5 mg Temoebilin

C = Vergiftung und Gabe von 187 mg Temoebilin

100 ml Perfusionsmedium, Vergiftung bei 0.

Abb.13

Hemmung des K^+ -Verlustes der mit Phalloidin vergifteten isoliert perfundierten Rattenleber mit Temöbilin.



1,10. Decholin

Es war zu prüfen, ob die Wirkung des Temöbilins spezifisch für diese Substanz war, oder ob auch andere Choleretica den Kaliumverlust der Leber bei der Phalloidinvergiftung im Modellversuch zu hemmen vermochten. Es wurden deshalb einige Versuche mit DECHOLIN, dem stärksten der bisher bekannten Choleretica, durchgeführt. In Abb. 14 ist das Ergebnis dieser Versuche wiedergegeben. Wie die Kurve A zeigt, hatten 4,0 mg Dehydrocholsaures Natrium keinen Einfluß auf den K^+ -Verlust, während 10,0 mg schon einen deutlichen Hemmeffekt zeigten. Am besten hemmten 20,0 mg, während sich dieser Effekt durch Erhöhung der Dosis auf 200,0 mg Dehydrocholat nicht verbessern ließ. (Kurve C).

Zu Abb. 14

K = Kontrollen N = Normale Leber

A = Vergiftung und Gabe von 4,0 mg Dehydrochol.

B = Vergiftung und Gabe von 10,0 mg Deh.-Cholat

C = Vergiftung und Gabe von 200,0 mg Deh.-Cholat

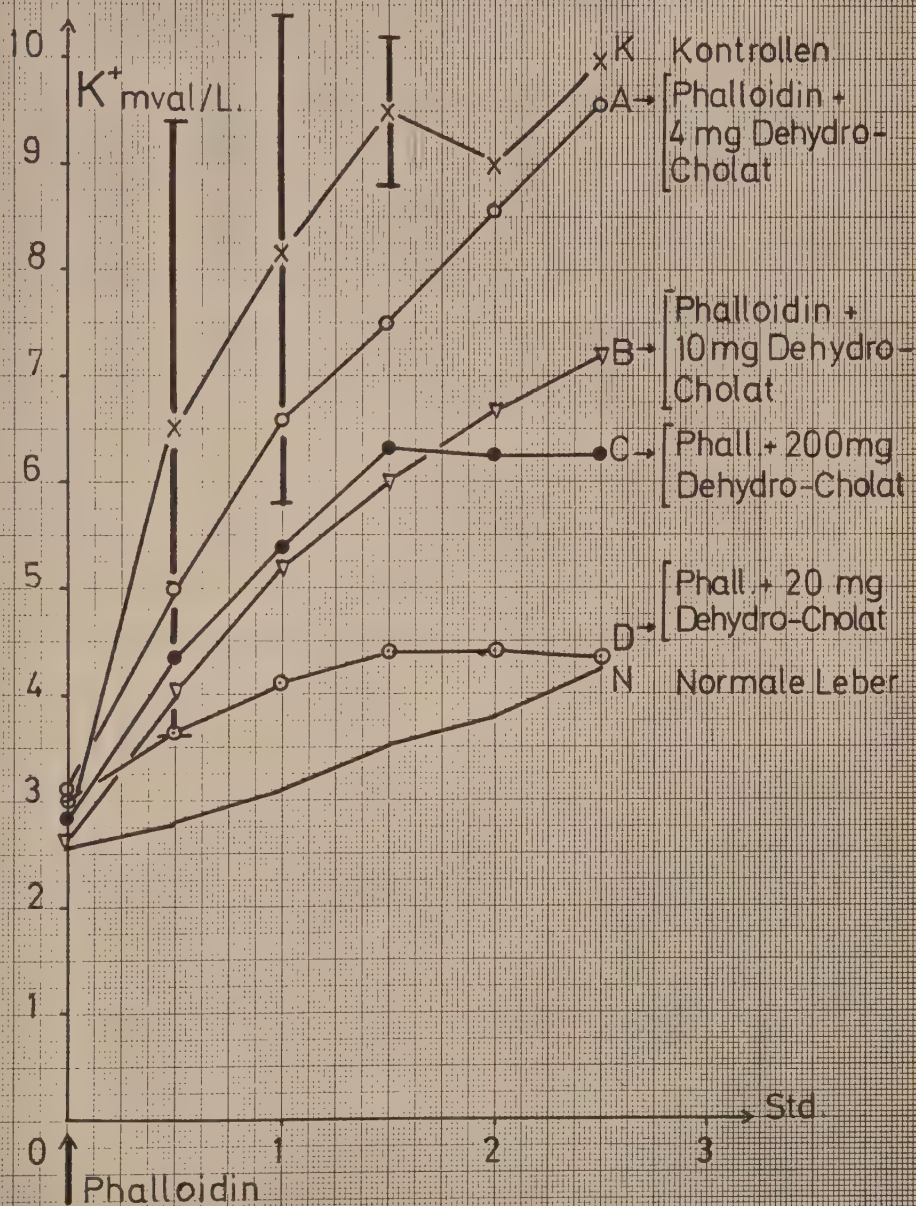
D = Vergiftung und Gabe von 20,0 mg Deh.-Cholat

Vergiftung im Zeitpunkt 0

100 ml Perfusionsmedium

Abb.14

Wirkung von DEGHOLIN auf den
K⁺-Verlust der mit Phalloidin vergif-
teten isolierten Rattenleber.



1,11. Essentiale 303 (EPL)

Wie die in Abb.15 dargestellten Versuche ergaben, war die Wirkung von EPL sehr stark von der Wahl der Dosis abhängig. Die Kurve A zeigt, daß bei Gabe von 1 ml EPL die Phalloidinwirkung eher verstärkt als gehemmt wurde, denn bereits nach einer halben Stunde hatte die Leber soviel Kalium in das Perfusionsmedium abgegeben, daß es zum Konzentrationsausgleich zwischen beiden gekommen war. Mit steigenden Dosen nahm die Schutzwirkung von EPL zu. Bei B wurden 2,5 ml eingesetzt und es war schon ein leichter Hemmeffekt festzustellen. Wurden 5 ml EPL gegeben, so konnte der K^+ -Verlust optimal gehemmt werden (KURVE C).

Zu Abb.15

Hemmung des Kaliumverlustes der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber durch Essentiale (EPL).

K = Kontrollen N = Normale Leber

A = Vergiftung und Gabe von 1 ml EPL

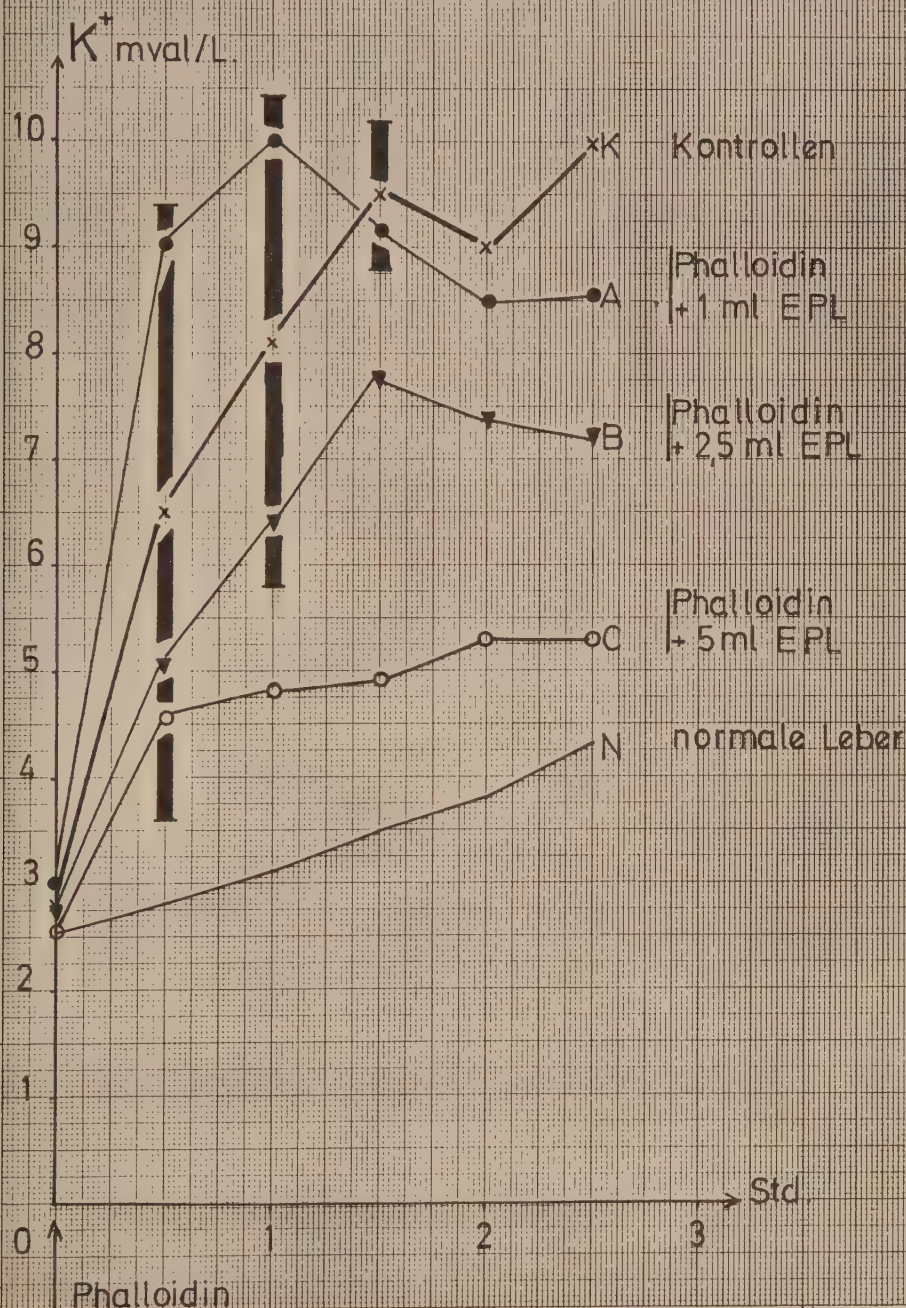
B = Vergiftung und Gabe von 2,5 ml EPL

C = Vergiftung und Gabe von 5 ml EPL

100 ml Perfusionsmedium

Abb.15

Hemmung des K^+ -Verlustes der
mit Phalloidin vergifteten isolierten
Rattenleber mit Essentiale (EPL)



1,12. I n s u l i n

Insulin wurde folgendermaßen gelöst: 0,45 mg Zinkinsulin wurden zunächst in 1 ml 0,01 N HCl gelöst. Dann wurde diese Lösung mit 1 ml 0,01 N NaOH neutralisiert. Schließlich wurde 1 ml der neutralen Zinkinsulinlösung in 9 ml einer 1 %igen Albumin-Tyrodellösung von pH 7,6 unter ständigem Rühren eingetropft. In 1 ml der so erhaltenen Lösung waren 0,0225 mg = 0,5 I.E. Insulin enthalten, 0,05 ml der Lösung enthielten 25 mE. Insulin. Wie Abb. 16 zeigt, konnte Insulin in keiner der gewählten Dosierungen den K^+ -Verlust hemmen. Nur bei der hohen Dosis von 500 mE. wurde ein gewisser Schutzeffekt festgestellt. Bei A wurden zusammen mit Phalloidin 50 mE. gegeben und dann alle Viertelstunden jeweils 25 mE. bis 2 Stunden nach der Giftzugabe.

Zu Abb. 16

Wirkung von Insulin auf den K^+ -Verlust der mit Phalloidin vergifteten isolierten Rattenleber.

K = Kontrollen

N = Normale Leber

A = Verg. u. Gabe von 50 + 8 x 25 mE. Insulin

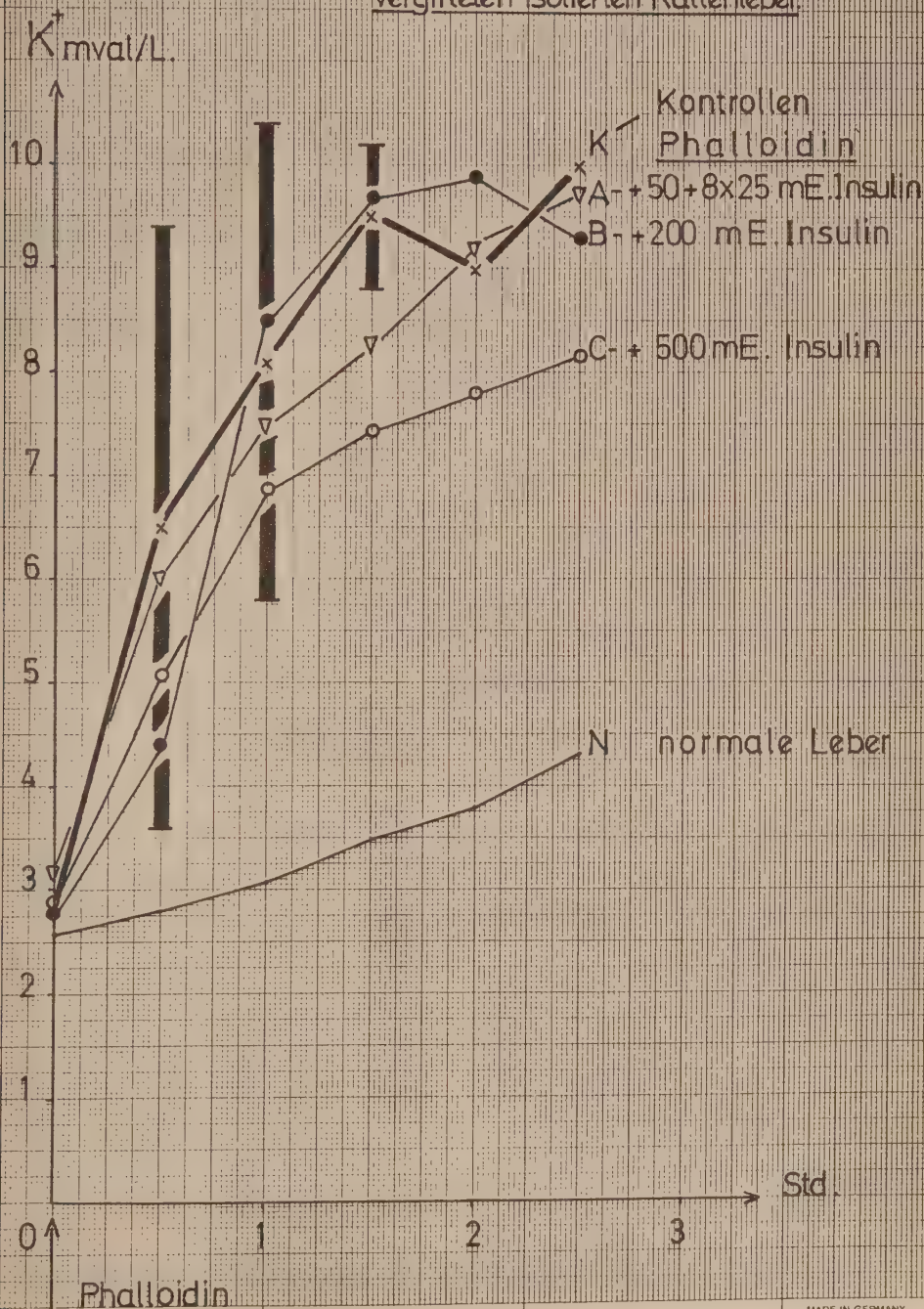
B = Verg. u. Gabe von 200 mE. Insulin

C = Verg. u. Gabe von 500 mE. Insulin

100 ml Perfusionsmedium

Abb. 16

Wirkung von Insulin auf den
 K^+ -Verlust der mit Phalloidin
 vergifteten isolierten Rattenleber.



1,13. Decortilen solubile

Wie die Abb. 17 zeigt, hemmte die kleinste Dosis den Kaliumausstrom am wirkungsvollsten, während die höchste Dosis die K^+ - liberierende Wirkung des Phalloidins noch verstärkte. Die mittlere Dosis von 0,1 mg zeigte noch einen gewissen Schutzeffekt (Kurve B).

Zu Abb. 17

Wirkung von Decortilen solubile auf den Kaliumverlust der mit Phalloidin vergifteten isolierten Rattenleber.

K = Kontrollen (0,56 mg Phalloidin)

N = Normale Leber

A = Vergiftung und Gabe von 1 mg Decortilen

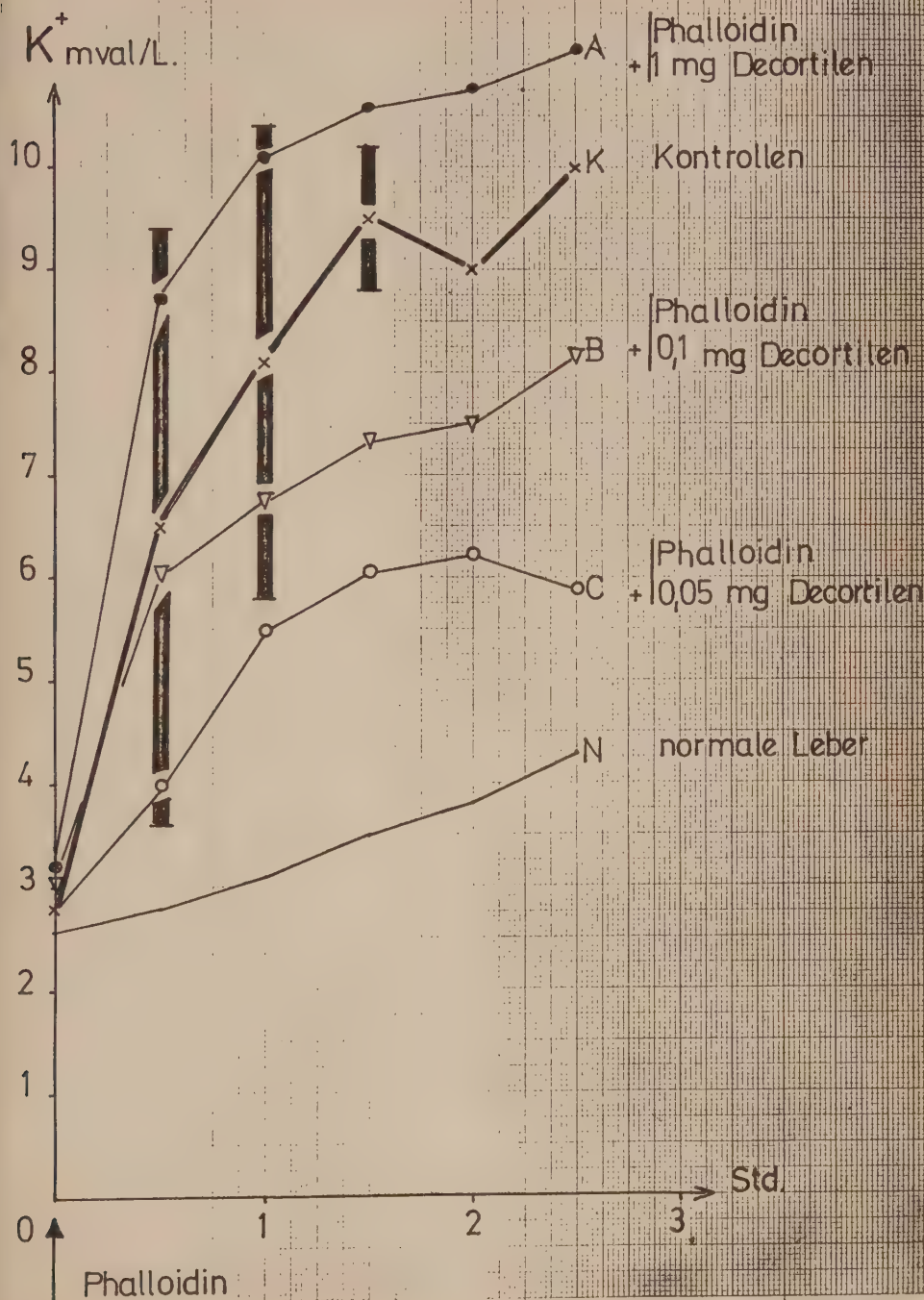
B = Vergiftung und Gabe von 0,1 mg Decortilen

C = Vergiftung und Gabe von 0,05 mg Decortilen

100 ml Perfusionsmedium

Abb. 17

Wirkung von Decortilen auf den K^+ -Verlust
der mit Phalloidin vergifteten Rattenleber.



2. Beeinflussung der β -Glucuronidase-Aktivität

Neben der Messung des Anstiegs der K^+ -Konzentration, der als das erste überhaupt meßbare Ereignis bei der Phalloidinvergiftung im Modellversuch von besonderer Bedeutung ist, wurde bei allen Versuchen die β -Glucuronidase-Aktivität bestimmt. Wie die Untersuchungen von FRIMMER u. Mitarb. ergeben hatten, folgt dem K^+ -Ausstrom sehr bald eine Abgabe lysosomaler Enzyme (β -Glucuronidase, Kathepsin) in das Perfusat. Die Schwellung und Verfärbung der vergifteten Leber läuft zeitlich damit parallel. Die Gewichtszunahme ist neben dem Anstieg der K^+ -Konzentration im Perfusat ein gutes Kriterium der Phalloidinvergiftung. In der Tabelle ist die relative Gewichtszunahme der Leber während der Perfusion wiedergegeben; Während normale Lebern bis zu 25 % an Gewicht zunahmten, kam es unter der Phalloidinwirkung zu einer Zunahme von durchschnittlich 160 %. Die Gewichtszunahme war nach Gabe derjenigen Substanzen, die den K^+ -Verlust optimal hemmten, relativ gering.

Die Aktivität der β -Glucuronidase konnte dagegen durch Zugabe der einzelnen Substanzen nicht wesentlich gehemmt werden. Nur Dimethylsulfoxid und Dithiopropandiol zeigten einen gewissen Hemmeffekt. In der Tabelle ist die Aktivität der β -Glucuronidase nur von den Versuchen wiedergegeben, bei welchen der K^+ -Verlust optimal gehemmt worden war. Um die Wirkung der einzelnen Substanzen auf die Aktivität der β -Glucuronidase beurteilen zu können, wurden nicht die absoluten Mengen freigesetzten Enzyms angegeben, sondern die bei unserer Analysenmethode abgelesenen Extinktionen 546 nm. Die in der Tabelle angegebenen Zahlen entsprechen den nach zwei Stunden Perfusionsdauer gemessenen Ext. 546 nm - Werten.

Beim Temoeobilin konnte β -Glucuronidase nicht gemessen werden, da die bei der Messung nach Zugabe der Probe normalerweise entstehende Färbung der Meßlösung sofort wieder verschwand.

T a b e l l e I

		Ext. 546 nm 2-Stunden- Werte	rel. Gew. Zunahme in %
Normale Leber		0,05	25,0
Vergiftete Leber		1,25	160,0
<u>Vergiftung und Zugabe von:</u>			
Thioctsäure	(10,0 mg)	1,10	87,5
B A L	(2,8 mg)	0,95	70,0
Cystein	(15,8 mg)	1,45	133,3
Cysteamin	(10,3 mg)	1,05	104,0
Homocystein	(32,0 mg)	1,65	64,7
Coenzym A	(5,0 mg)	1,25	72,4
Silymarin	(30,0 mg)	1,13	39,3
D M S O	(0,5 ml)	0,85	58,8
Temoebilin	(187,0 mg)	-	95,8
Decholin	(0,1 ml)	0,93	98,5
Essentiale	(5,0 ml)	1,70	104,0
Insulin	(500,0 mE)	-	105,8
Decortilen	(50,0 γ)	1,80	125,0

4. DISKUSSION

Die vorgelegten Befunde zeigen, daß die bei der Phalloidinvergiftung auftretenden Kaliumverluste in der Leber durch eine ganze Reihe von Pharmaka vermindert werden können. Hinsichtlich des Wirkungsmechanismus sind vorerst nur Spekulationen möglich:

Ein Teil der wirksamen Pharmaka sind Choleretica (Temoebilin, Decholin, z.T. auch Silymarin). Da das Stillstehen des Galleflusses ein relativ frühes Ereignis der Phalloidinvergiftung ist, könnte die Stimulation der Cholerese den Prozess der Vergiftung verzögern. Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei erhöhter Galleproduktion in der Anfangsphase der Vergiftung wenigstens ein Teil des Giftes über die Galle ausgeschieden wird. Die Untersuchung dieses Problems wäre nur durch Anwendung von markiertem Phalloidin möglich. Ungeachtet der theoretischen Deutung sprechen unsere Versuche dafür, daß eine pharmakologische Steigerung des Galleflusses bei einer bestehenden Phalloidinvergiftung eine nützliche Maßnahme sein dürfte.

Eine zweite Gruppe von Substanzen läßt sich unter dem Oberbegriff "schwefelhaltige Verbindungen" zusammenfassen. Dabei sind Stoffe von hoher spezifischer Funktion, wie das Coenzym A und α -Liponsäure von weniger spezifischen SH-Verbindungen wie Cystein, Cysteamin,

Homocystein und Dithiopropanol abzugrenzen. Coenzym A und α -Liponsäure spielen in der praktischen Leberschutztherapie bereits eine Rolle, α -Liponsäure wurde sogar klinisch bei der Knollenblätterpilzvergiftung angewandt (Herink, 1958; Kubicka, 1963 u. 1968; Schmid et al., 1964; Barszcs, Harmacinska und Gumovska, 1965). Die gute Wirksamkeit beider Verbindungen konnte durch die vorgelegten Befunde an der perfundierten Rattenleber nunmehr objektiviert werden. Die Versuche mit den übrigen SH-Verbindungen zeigen, daß die Wirksamkeit der einzelnen Substanzen in dieser Klasse durchaus nicht identisch ist: Cystein und Homocystein wirkten deutlich besser als Dithiopropanol und Cysteamin. Die Wirksamkeit der SH-Verbindungen sowie der Thioctsäure deutet darauf hin, daß bei der Phalloidinvergiftung schwefelhaltige Membranstrukturen am molekularen Mechanismus beteiligt sein müssen. Im gleichen Sinne spricht auch die Beobachtung, daß die Phalloidinvergiftung durch organische Quecksilberverbindungen verstärkt wird (Gries, Hegner, Frimmer und Glossmann, 1968).

Unter den untersuchten Substanzen befinden sich zwei Hormone, nämlich das Insulin und das Glucocorticoid Decortilen. Bei den bekannten Einflüssen des Insulins auf den Kaliumstoffwechsel der Leber können die Ergebnisse unserer diesbezüglichen Untersuchungen als enttäuschend bezeichnet werden. Insulin-

dosen, die noch als einigermaßen physiologisch bezeichnet werden könnten, waren in unserem Test so gut wie unwirksam. Erst bei extrem hohen Dosen war eine Hemmung des Kaliumaustrittes zu beobachten.

Beim Decortilen zeigte sich innerhalb eines scharf begrenzten optimalen Dosisbereiches eine günstige Beeinflussung der Intoxikation. Es muß besonders darauf hingewiesen werden, daß sich bei sehr hohen Dosen an Glucocorticoiden die Wirkung auf den Kaliumaustritt wieder vermindert. Dieser Befund sollte besondere Beachtung bei den Klinikern finden und vor einer bedenkenlos hohen Dosierung dieser Steroidhormone bei der Knollenblätterpilzvergiftung warnen.

Im übrigen scheinen die Dosiswirkungsbeziehungen auch bei den folgenden der geprüften Substanzen durch ein Optimum zu verlaufen: D M S O , E s s e n - t i a l e , S i l y m a r i n .

Die Wirkung von DMSO dürfte als ein rein physikochemischer Effekt zu erklären sein. Die von diesem stark polaren organischen Lösungsmittel ausgeübten Schutzwirkungen dürften rein physikochemische Wirkungen an Zellmembranen sein. DMSO kann einen Teil des Wassers innerhalb von Membranen ersetzen; Es vermag andererseits viele organische Verbindungen durch biologische Barrieren zu transportieren, sodaß in unserem Falle damit zu rechnen ist, daß die relativ

hohen erforderlichen DMSO-Konzentrationen auch die Verteilung und Bindung des Giftes innerhalb der Leberzelle erheblich beeinflussen. Wegen der relativ hohen erforderlichen Konzentrationen an DMSO ist es unwahrscheinlich, daß diese Substanz bei der Knollenblätterpilzvergiftung am Menschen anwendbar ist.

Die Anwendung eines im Handel befindlichen Gemisches von essentiellen Phospholipiden (Essentiale 303, EPL) ergab bei extrem hohen Konzentrationen an der perfundierten Rattenleber eine ausgezeichnete Wirkung hinsichtlich des Kaliumaustritts. Bei der Höhe der hier angewendeten Konzentrationen muß allerdings damit gerechnet werden, daß auch bei dieser Wirkung physikochemische Verteilungseffekte eher im Spiele sind als ein spezifischer biochemischer Mechanismus. Im Bereich der praktisch anwendbaren Konzentrationen dieses Lipidgemisches war die Wirkung an unserem Modell nicht überzeugend.

Silymarin ist nach Befunden der Arbeitsgruppe von VOGEL einerseits als Leberschutzstoff, andererseits aber auch als galletreibendes Mittel aufzufassen. Silymarin zeigt bei der akuten Phalloidinvergiftung am Ganztier eine deutliche Schutzwirkung. Unsere Befunde objektivieren diesen Schutzeffekt auf der molekularen Ebene des Kaliumaustritts. Ob die von uns beobachtete Wirkung indirekt durch eine Steigerung

des Galleflusses oder indirekt über den Schutz empfindlicher Strukturen zustandekommt, läßt sich zur Zeit noch nicht entscheiden.

Von einigem Interesse ist die Beobachtung, daß bei den von uns untersuchten Stoffen das Ausmaß der Verhinderung des Kaliumaustrittes in grober Näherung mit der Hemmung der Gewichtszunahme der perfundierten Leber parallel läuft.

Dagegen konnte die Freisetzung der β -Glucuronidase von der Mehrzahl der am Kaliumaustritt wirksamen Stoffe nicht beeinflußt werden (Ausnahmen: D M S O und B A L). Dies deutet darauf hin, daß bei der Phalloidinvergiftung neben einem sehr früh stattfindenden molekularen Ereignis auch noch andere, damit nicht zusammenhängende biochemische Angriffspunkte des Phalloidins an inneren Zellstrukturen angenommen werden müssen.

Unsere Untersuchungen zeigen aber deutlich, daß eine ganze Reihe sogenannter Leberschutzstoffe und Chole-retica bei der Phalloidinvergiftung nützlich sein können. Sie zeigen weiterhin, daß der Kliniker hinsichtlich der optimalen Dosierung sehr vorsichtig sein muß, da ein Teil dieser Stoffe bei zu hoher Dosierung den Ablauf der Vergiftung eher negativ als positiv beeinflußt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) An der isoliert perfundierten Rattenleber wurden die Wirkungen von Phalloidin am Kriterium des Kaliumaustrittes, der Freisetzung von β -Glucuronidase und der Gewichtszunahme des perfundierten Organs gemessen.
- 2.) Der bei einer der tödlichen Phalloidinvergiftung am Ganztier entsprechenden Giftdosis stattfindende Kaliumverlust der Leber konnte durch eine Reihe von Leberschutzstoffen, Choleretica, Hormonen und einigen weiteren Substanzen weitgehend oder teilweise dosisabhängig gehemmt werden.
- 3.) Neben der Thioctsäure und Coenzym A waren praktisch alle geprüften SH-Verbindungen mehr oder weniger stark wirksam.
- 4.) Choleretica wie Decholin und Temoebilin, sowie das teilweise choleretisch wirksame Silymarin zeigten im geeigneten Dosisbereich eine auffallend gute Beeinflussung des Kaliumaustrittes.
- 5.) Insulin war in physiologischen Dosen nahezu unwirksam.
- 6.) Glucocorticoide zeigten ein ausgeprägtes Wirkungsmaximum, während zu hohe Dosen eine Abnahme der Wirksamkeit ergaben.

- 7.) Die beobachteten Effekte von D M S O ,die nur bei relativ hohen Konzentrationen auftraten, werden als rein physikochemische Effekte gedeutet.
- 8.) Die Anwendung von Gemischen essentieller Phospholipide ergab nur bei ungewöhnlich hohen Konzentrationen eine Verhinderung des Kaliumaustrittes.
- 9.) Die möglichen Wirkungsmechanismen der untersuchten Substanzen werden diskutiert.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1.) ALFES, H., G. BORNMANN u. G. HENKE: Über die Ausscheidung von p-Tolylmethylcarbinol mit der Galle. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 259, 427 (1968).
- 2.) BARSZCS, K., H. HARMACINSKA u. G. GUMOVSKA: Vergiftung einer ganzen Familie mit Pilzen. Pilzvergiftungen bei Kindern. Vorträge Nov. 1965, Ärztetag in Posen.
- 3.) BLOCK, S. S., R. L. STEPHENS u. W. A. MURRIL: The amanita toxins in mushrooms. Agric. Food Chem. 3, 584 (1955)
- 4.) BOCK, H. E., H. NIETH, E. ZYSNO, J. GAYER u. CH. FRÖHLICH: Die Knollenblatterschwammvergiftung, Symptomatologie und klinische Therapie. D. med. Wschr., 35, 1617 (1964).
- 5.) BONI, P. u. a.: Clin. therap., 9, 129 (1955), Zit. aus: Kurzinformation Thiocetacid (Thioctsäure Homburg)
- 6.) BROSS, W., T. ORLOWSKI u. R. BADURA: Zur Therapie von experimentellen Leberschäden. Ztrbl. Chir., 87, 1706 (1962).
- 7.) BURTON, S. D., C. E. MONDON u. T. ISHIDA: Dissociation of potassium and glucose efflux in isolated perfused rat liver. Am. J. Physiol. 212, 261 (1967).
- 8.) ----- u. T. ISHIDA: Effekt of insulin on potassium and glucose movement in isolated perfused rat liver. Am. J. Physiol. 209, 1145 (1965).
- 9.) DEIBERT, K. u. R. JUCHEMS: Erhöhung der glomerulären Filtration durch Phospholipide.

- Münch.med.Wschr. 108,2495 (1966).
- 10.) EGER, W.: The necrotropic liver protective substances. The Liver 2,553 (1964).
 - 11.) --- Schädigung der Leber durch Halothan und ihre Kompensation durch nekrotrope Leberschutzstoffe. Arzneim.-Fschg. 18,1441 (1968).
 - 12.) EICHLER, O. u. M. HAHN: Versuche zum Schutz gegen leberschädigende Gifte. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. exp. Path. 206,674 (1949).
 - 13.) ESSLINGER, F.: Knollenblätterpilzvergiftung, ein klinischer Erfahrungsbericht. Med. Welt 17, 1055 (1966).
 - 14.) FISHMAN, W. H., B. SPRINGER, and R. BRUNETTI: Application of an improved glucuronidase assay; method to the study of human blood β -glucuronidase. J. biol. Chem. 173,449 (1948).
 - 15.) FIUME, L. e R. LASCHI: Lesioni ultrastrutturali prodotte nelle cellule parenchimali eratiche dalla falloidina e dalla α -amanitina. Sperimentale 115,288 (1965).
 - 16.) --- ,and F. STIRPE: Decreased RNA content in mouse liver nuclei after intoxication with α -amanitin. Biochim. biophys. Acta (Amst.) 123,643 (1966).
 - 17.) FRIMMER, M., J. GRIES, D. HEGNER u. B. SCHNORR: Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus des Phalloidins. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. exp. Path. 258,197 (1967).
 - 18.) --- ,G. WALDVOGEL u. G. WEIL: Schutzwirkung von Thioctsäure gegen die K^+ - freisetzende Wirkung des Phalloidins an der isoliert perfundierten Rattenleber. Klin. Wschr. 46,1288 (1968).
 - 19.) --- ,H. GLOSSMANN, D. HEGNER, B. SCHNORR u. PUCHINGER: (In Vorbereitung)
 - 20.) GREGL, A.: Leberschutztherapie in der Bekämpfung des Strahlensyndroms. Ärztl. Praxis 10,749 (1958),

- 21.) GREGL, A.: Klinische und experimentelle Untersuchungen über Wirkung und Verhalten essentieller Fettsäuren beim Strahlensyndrom. Strahlenforschung u. Strahlenbehandlung Bd. II, Sonderbände zur Strahlentherapie Bd. 46 (1960).
- 22.) GRIES, J. M., FRIMMER, D., HEGNER u. H. GLOSSMANN:
Störungen der Kationenpermeabilität von Leberzellmembranen durch Phalloidin.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. exp. Path. 260, 125 (1968).
- 23.) HARTMANN, F.: Die Leberverfettung und das Wesen des lipotropen Effektes. Fortschr. d. Gastroenterologie (Lehmann, München 1960).
- 24.) HAYASHI, Y., and J. J. LALICH: Protective effect of mercaptoethylamine and cysteine against monocrotaline intoxication in rats. Tox. appl. Pharmakol. 12, 36 (1968).
- 25.) HERINK, J.: Pilzvergiftungen, Prag 1958.
- 26.) JUBIN, E. u. S. MOESCHLIN: Die Amanita-Pilzvergiftung und die Problematik ihrer Behandlung. Praxis 53, 1502 (1964).
- 27.) KNAUFF, H. G., A. GEORGII u. K. MATZEN: Der Einfluß von Cholinphospholipiden auf das Spektrum der freien Plasmaamino-säuren bei toxischen Leberschäden. Klin. Wschr. 41, 915 (1963).
- 28.) KORNBERG, A. u. A. M. ENDICOTT: The electrolytes of muscle and liver in potassium depleted rats. Am. J. Physiol. 145, 291 (1946).
- 29.) KUBICKA, J.: Zwanzig Jahre Kampf gegen Pilzvergiftungen, Schweiz. Z. Pilzk. (Bull. suisse Mycol) 46, 81 (1968) - Mykol. Mitt. Bl. 7, 92 (1963).
- 30.) KUNTZ, E. u. P. NEUMANN-MANGOLDT: Die akute perorale Trichloräthylenvergiftung, ein klinischer Erfahrungsbericht. Med. Welt, H. 51, 2872 (1965).
- 31.) LYNN, F. u. U. WIELAND: Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes IV., Liebigs Ann. Chem. 553, 93 (1938).

- 32.) MATSCHINSKY, F.: Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus des Knollenblätterpilzgiftes Phalloidin, Inaug. Dissertation München 1959.
- 33.) MAYER, F. u. F. MENGE: Die gebräuchlichsten homöopathischen Mittel - 2. *Carduus marianus* Arzt und Patient 62, 256 (1949).
- 34.) MISCH, D. u. M. MISCH: Dimethylsulfoxide: Activation of lysosomes in vitro. *Proc. Ntl. Ac. Sci.* 58, 2462 (1967).
- 35.) MONDON, C. E., S. D. BURTON, G. M. GRODSKY, and T. ISHIDA: Glucose tolerance and insulin response of potassium deficient rat and isolated rat liver. *Am. J. Physiol.* 215, 779 (1968).
- 36.) OBAUER, G. u. H. SCHÖN: Experimentelle Untersuchungen zur Knollenblätterpilzvergiftung. *Arzneim. Fschg.* 14, 1257 (1964).
- 37.) PAULET, G.: *Traité de champignons*, Vol. II, Paris 1808.
- 38.) PETZOLD, H. u. E. ROSAM: Der Einfluß von EPL auf die Äthioninschädigung der Rattenleber. *Dtsch. Z. Verd. u. Stoffwechselkr.* Bd. 23, Heft 3/4 (1963).
- 39.) PIRTKIEN, R., E. SURKE u. G. SEYBOLD: Vergleichende Untersuchungen über die choleretische Wirkung verschiedener Arzneimittel bei der Ratte. *Med. Welt* 26, 1417 (1960).
- 40.) PÖTTGEN, W.: Die Fettleber. *Med. Welt* 16, 962 (1961).
- 41.) PUCHINGER, H.: Zum Wirkungsmechanismus von Phalloidin und Antamanid, Inaug. Dissertation, Frankfurt/M. 1968.
- 42.) REHBINDER, D., G. LÖFFLER, O. u. TH. WIELAND: Studien über den Mechanismus der Giftwirkung des Phalloidins mit radioaktiv markierten Giftstoffen. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 331, 132 (1963).
- 43.) SCHMID, E., H. WÜST u. D. BRESSEL: Pilzvergiftungen, Klinik und Therapie. *Visum*, H. 4, 98 (1964).
- 44.) SCHÖN, H. u. H. JÖRG: Zur Therapie der hyperlipämischen Atherosklerose. *Arzn. Fschg.* 17, 491 (1963).

- 45.) SCHULTIS, K. u. G. SCHÜTTERLE: Zur Therapie der Knollenblätterpilzvergiftung. Med. Welt 6, 312 (1967).
- 46.) SIEDE, W.: Die Fettleber. Monatskurse ärztlicher Fortbildung 11, 422 (1961).
- 47.) SOMMER, S. u. G. TAUBERGER: Toxikologische Untersuchungen mit DMSO. Arznm. Fschg. 14, 1050 (1964).
- 48.) STRANSKY, E.: Weitere Untersuchungen über die Pharmakologie der Gallensekretion. Biochem. Z. 155, 256 (1925).
- 49.) THOELN, H., F. BIGLER, A. HEUSLER u. H. STAUB: Therapie des Leberkomas mit Coenzym A, α -Liponsäure und DPN. Dtsch. Med. Wschr. 87, 2448 (1962).
- 50.) VOGEL, G.: Silymarin, das antihepatotoxische Wirkprinzip aus Silybum marianum (L.) Gaertner als Antagonist der Phalloidinwirkung. Arznm. Fschg. 18, 1063 (1968).
- 51.) WAGNER, H., L. HÖRHAMMER u. R. MÜNSTER: Zur Chemie des Silymarins (Silybin), des Wirkprinzips der Früchte von Silybum marianum (L.) Gaertner (Carduus marianus L.). Arznm. Fschg. 18, 688 (1968).
- 52.) WEISSMANN, G., G. SESSA, and V. BEVANS: Effect of DMSO on the stabilization of lysosomes by cortisone and chloroquine in vitro. Ann. New York Acad. Sci. 141, 326 (1967).
- 53.) WELT, L. G., W. HOLLANDER Jr., and W. BLYTHE: The consequences of potassium depletion J. chron. dis. 11, 213 (1960).
- 54.) WIELAND, O.: Changes in liver metabolism induced by poisons of Amanita phalloides. Clin. Chem. 2, 323 (1965).
- 55.) ----, TH. u. O.: Chemistry and toxicology of the toxins of A. phalloides, Pharmacol. Reviews 11, 87 (1959).
- 56.) ----, Th.: The toxic peptides of A. phall. Ftschr. Chem. organ. Naturst. 25, 214 (1967).

Ich danke Herrn Prof.Dr.med.M. F r i m m e r
für die Überlassung des Themas und die zahl-
reichen Anregungen und Hilfen bei der Planung,
Durchführung und Auswertung der Versuche.

7. LEBENS LAUF

- 1933,28.11.: Geboren als Sohn des Feintäschners Theodor Weil und seiner Ehefrau Augusta, geb. Haus, in Offenbach/M., Lämmerspieler Weg 13.
- 1940-1943: Besuch der Volksschule in Offenbach/M.. Seit dem Sommer 1943 evakuiert in Forstfeld, Kr. Röschwog i. U.-Elsaß. Besuch der dortigen Volksschule.
- 1944: Seit November auf der Flucht vor der Front. Seit Januar 1945 in Tuttlingen a.d. Donau. Bis zum Herbst dieses Jahres kein Schulunterricht.
- 1945: Seit Oktober Besuch des Realgymnasiums für Jungen in Offenbach/M.
- 1954: Reifeprüfung am 16. März bestanden. Seit dem S.S.d.J. Studium der Veterinärmedizin an der Justus Liebig-Universität zu Gießen.
- 1956: Tierärztliche Vorprüfung am 25. Mai bestanden.
- 1958: Seit dem WS, 1958/59 Unterbrechung des Studiums. Am 21.12.1960 Heirat, am 20.6.1961 Geburt der Tochter Susanne.
- 1964: Wiederaufnahme des Studiums im ersten klinischen Semester.- Während der Semesterferien und samstags, sowie in den Jahren 1958-1964, Tätigkeit als Fliesenleger.
- 1967: Tierärztliche Prüfung am 11. Juni bestanden. Danach als Veterinärpraktikant bei Dr. Josef Keller in Bergisch-Gladbach, Odenthaler Str. 154.
- 1968: Januar-Mai als Assistent in der Praxis meines Lehrtierarztes. Seit dem 15. Mai 1968 am Institut für Pharmakologie und Toxikologie an der Veterinärmed. Fakultät der Justus Liebig-Universität mit der Anfertigung vorliegender Arbeit beschäftigt.

